



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0163080
(43) 공개일자 2024년11월18일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/517 (2006.01) A61K 31/4725 (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01) A61P 31/12 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 31/517 (2013.01)
A61K 31/4725 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7031682
(22) 출원일자(국제) 2023년02월23일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2024년09월23일
(86) 국제출원번호 PCT/IB2023/051675
(87) 국제공개번호 WO 2023/161844
국제공개일자 2023년08월31일
- (30) 우선권주장
202210168693.X 2022년02월23일 중국(CN)

- (71) 출원인
아스클리피온 파마수티컬 씨오., 엘티디
중국 215000 지양수, 수저우 수저우 에어리어 차이나 (지양수) 파일럿 트레이드 존, 수저우 인터스트리얼 파크, 싱후 스트리트 넘버. 218, 빌딩 비1, 룸 210
- (72) 발명자
웨이, 웬주안
중국 215000 지양수, 수저우 수저우 에어리어 차이나 (지양수) 파일럿 트레이드 존, 수저우 인터스트리얼 파크, 싱후 스트리트 넘버. 218, 빌딩 비1, 룸 210
펑, 홍
중국 215000 지양수, 수저우 수저우 에어리어 차이나 (지양수) 파일럿 트레이드 존, 수저우 인터스트리얼 파크, 싱후 스트리트 넘버. 218, 빌딩 비1, 룸 210
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
파도특허법인유한회사

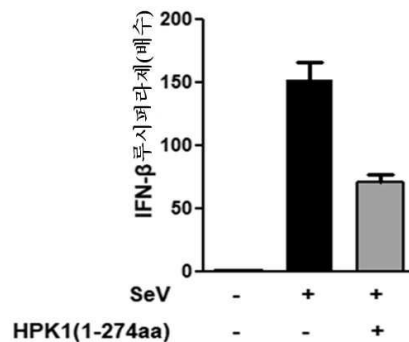
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 인터페론 관련 질환의 치료에서 HPK1 억제제의 응용

(57) 요약

본 발명은 완전히 새로운 HPK1 활성 억제 화합물을 개시하고 최초로 HPK1 키나아제와 바이러스 감염의 내재적 메커니즘 사이의 관계를 명확히 한다. 본 발명의 화합물은 인터페론 관련 질환, 특히 바이러스 감염의 치료에 사용될 수 있다. 본 발명은 본 발명의 화합물을 이용한 인터페론 관련 질환의 치료 방법을 더 제공한다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 31/5377 (2013.01)

A61P 31/12 (2018.01)

(72) 발명자

후양, 타오

중국 215000 지양수, 수저우 수저우 에어리어 차이나 (지양수) 파일럿 트레이드 존, 수저우 인터스트리얼 파크, 싱후 스트리트 넘버. 218, 빌딩 비1, 룸 210

후, 시안징

중국 215000 지양수, 수저우 수저우 에어리어 차이나 (지양수) 파일럿 트레이드 존, 수저우 인터스트리얼 파크, 싱후 스트리트 넘버. 218, 빌딩 비1, 룸 210

명세서

청구범위

청구항 1

인터페론 관련 질환을 치료 또는 예방하거나 면역력을 향상시키기 위한 약물의 제조에서 HPK1 억제제의 응용.

청구항 2

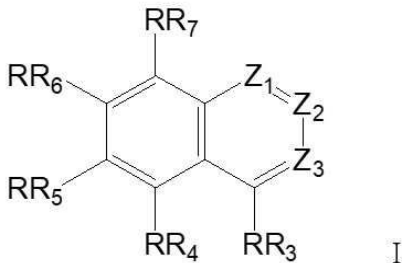
제1항에 있어서,

상기 인터페론 관련 질환은 바이러스 감염인 것을 특징으로 하는 응용.

청구항 3

제1항에 있어서,

HPK1 억제제는 식 I로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 입체 이성질체, 호변 이성질체, 프로드러그, 대사산물 또는 유도체이며,



상기 식 I에서, Z_1 은 N 또는 C- RR_1 로부터 선택되고;

Z_2 및 Z_3 은 각각 N 또는 C- RR_2 로부터 선택되며, Z_2 및 Z_3 은 상이하며;

RR_1 은 수소, 할로젠, 시아노, 히드록실, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_{3-6} 시클로알킬, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알콕시, 치환 또는 비치환된 아미노 또는 치환 또는 비치환된 아미도로부터 선택되고;

RR_2 는 치환 또는 비치환된 히드록실, 치환 또는 비치환된 아미노, 또는 치환 또는 비치환된 술폰히드릴로부터 선택되며;

RR_3 은 H, 히드록실, 할로젠, 시아노, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알콕시, 치환 또는 비치환된 아미노 또는 치환 또는 비치환된 아미도로부터 선택되고;

RR_4 , RR_5 , RR_6 , RR_7 은 각각 독립적으로 H, 히드록실, 할로젠, 시아노, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알콕시, 치환 또는 비치환된 아미노, 치환 또는 비치환된 아미도, 치환 또는 비치환된 C_{6-10} 헤테로아릴 또는 RR_8 - Z_4 로부터 선택되며;

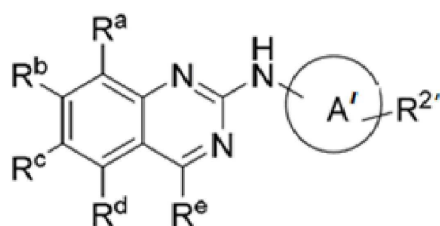
RR_8 은 치환 또는 비치환된 알킬, 치환 또는 비치환된 시클로알킬, 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴 또는 치환 또는 비치환된 히드록실로부터 선택되고;

Z_4 는 $-O-$, $-NH-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, 카르보닐, 카르보닐아미노 또는 아미노카르보닐로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 응용.

청구항 4

제3항에 있어서,

식 I로 표시되는 화합물은 하기 식 I-1로 표시되는 화합물이며,



I-1

상기 식 I-1에서, R^a , R^b , R^c , R^d 중 하나는 $R^{1'}$ - X' -이고, 나머지는 각각 독립적으로 H, 히드록실, 할로젠, 시아노, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알콕시로부터 선택되며;

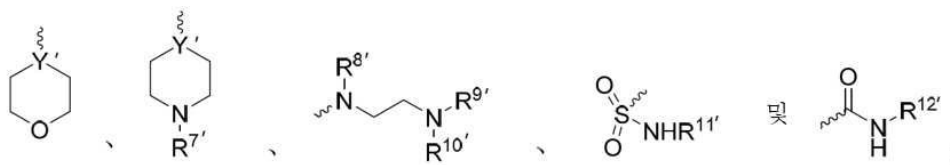
R^e 는 H, 히드록실, 할로젠, 시아노, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬, 또는 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알콕시로부터 선택되고;

X' 는 $-O-$, $-NH-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, 카르보닐, 카르보닐아미노 또는 아미노카르보닐로부터 선택되며;

$R^{1'}$ 은 치환 또는 비치환된 시클로알킬, 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴 또는 $R^{14'}$ - $O-(CH_2)_m$ -이되, m 은 0, 1, 2, 3, 4 또는 5이고, $R^{14'}$ 는 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이며;

A' 고리는 치환 또는 비치환된 아릴(바람직하게는 치환 또는 비치환된 페닐) 또는 치환 또는 비치환된 5-6원 헤테로아릴이되, 상기 헤테로아릴은 O, S 또는 N으로부터 선택되는 1~4개의 헤테로원자를 갖고;

$R^{2'}$ 는 다음과 같은 치환기로부터 선택되되,

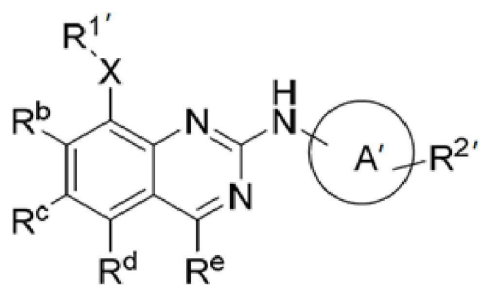


Y' 는 C 또는 N이고, $R^{7'}$ 은 H, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이며, $R^{8'}$ 은 H, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이고, $R^{9'}$ 및 $R^{10'}$ 은 독립적으로 H, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이며, $R^{11'}$ 은 H, 치환 또는 비치환된 아미노, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이고, $R^{12'}$ 는 치환 또는 비치환된 4-6원 헤테로시클릴인 것을 특징으로 하는 응용.

청구항 5

제4항에 있어서,

식 I-1로 표시되는 화합물은 식 I-1-1로 표시되며,



I-1-1

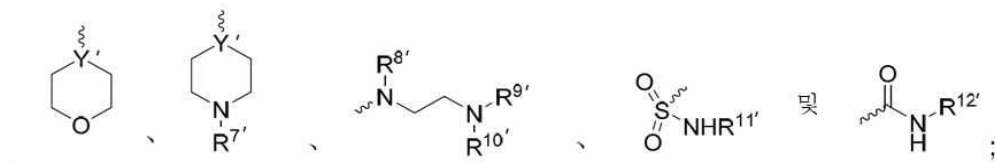
상기 식 I-1-1에서, R^b , R^c , R^d , R^e 는 각각 독립적으로 H, 히드록실, 할로젠, 시아노, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알콕시로부터 선택되고;

X' 는 $-O-$, $-NH-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, 카르보닐, 카르보닐아미노 또는 아미노카르보닐로부터 선택되며;

$R^{1'}$ 은 치환 또는 비치환된 시클로알킬, 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴 또는 $R^{14'}-O-(CH_2)_m-$ 이되, m 은 0, 1, 2, 3, 4 또는 5이고, $R^{14'}$ 는 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이며;

A' 고리는 치환 또는 비치환된 아릴(바람직하게는 치환 또는 비치환된 페닐) 또는 치환 또는 비치환된 5-6원 헤테로아릴이되, 상기 헤테로아릴은 O, S 또는 N으로부터 선택되는 1~4개의 헤테로원자를 갖고;

$R^{2'}$ 는 다음과 같은 치환기로부터 선택되되,

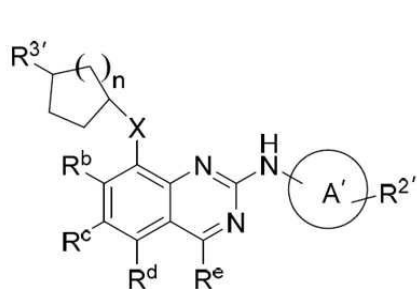


Y' 는 C 또는 N이고, $R^{7'}$ 은 H, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이며, $R^{8'}$ 은 H, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이고, $R^{9'}$ 및 $R^{10'}$ 은 독립적으로 H, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이며, $R^{11'}$ 은 H, 치환 또는 비치환된 아미노, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이고, $R^{12'}$ 는 치환 또는 비치환된 4-6원 헤테로시클릴인 것을 특징으로 하는 응용.

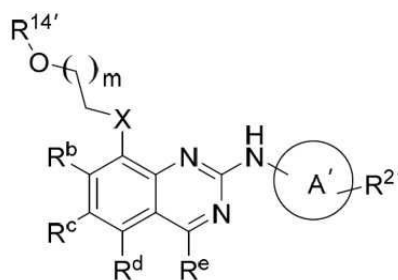
청구항 6

제5항에 있어서,

식 I-1로 표시되는 화합물은 식 I-1-1-1 또는 식 I-1-1-2로 표시되며,



I-1-1-1



I-1-1-2

상기 식 I-1-1-1 또는 식 I-1-1-2에서, R^b , R^c , R^d , R^e 는 각각 독립적으로 H, 히드록실, 할로젠, 시아노, 치환

또는 비치환된 C₁₋₆알킬, 치환 또는 비치환된 C₃₋₈시클로알킬 또는 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알콕시로부터 선택되고;

X는 -O-, -NH-, -S-, -SO-, -SO₂-, 카르보닐, 카르보닐아미노 또는 아미노카르보닐로부터 선택되며;

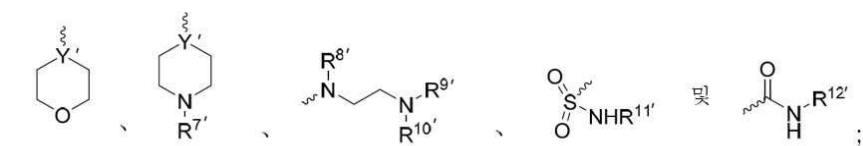
n은 1, 2, 3 또는 4이고,

m은 0, 1, 2, 3, 4 또는 5이며,

R^{14'}는 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알킬 또는 치환 또는 비치환된 C₃₋₈시클로알킬이고;

A' 고리는 치환 또는 비치환된 아릴(바람직하게는 치환 또는 비치환된 페닐) 또는 치환 또는 비치환된 5-6원 헤테로아릴이되, 상기 헤테로아릴은 O, S 또는 N으로부터 선택되는 1~4개의 헤테로원자를 가지며;

R^{2'}는 다음과 같은 치환기로부터 선택되되,

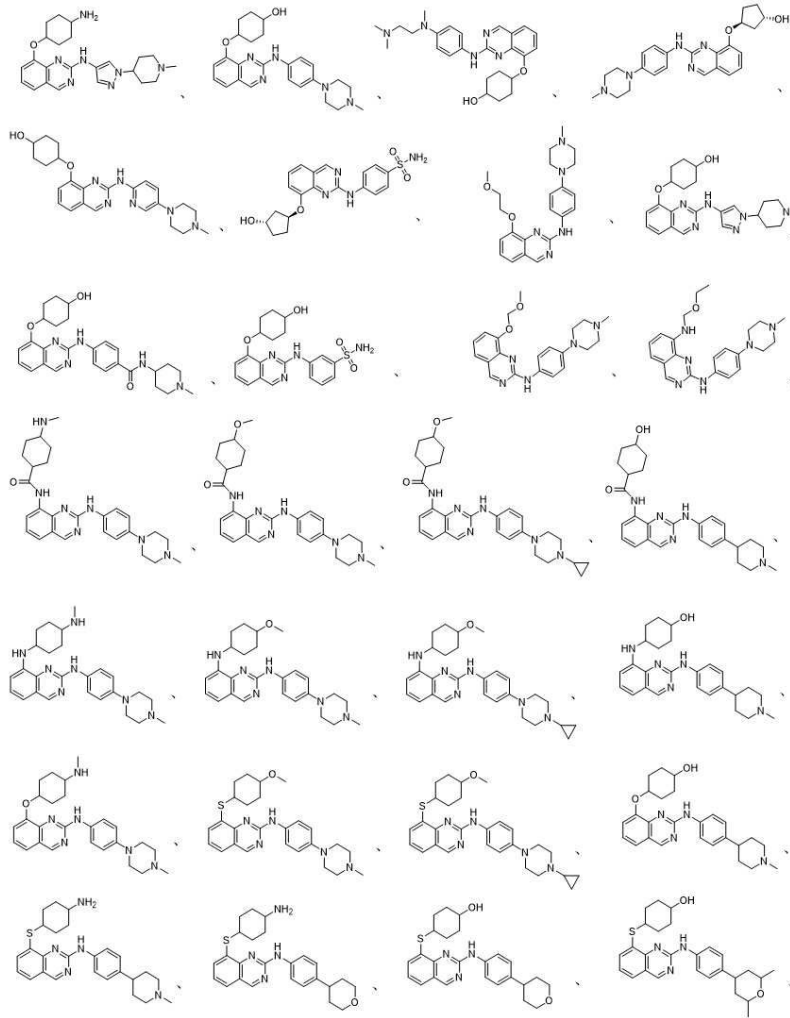


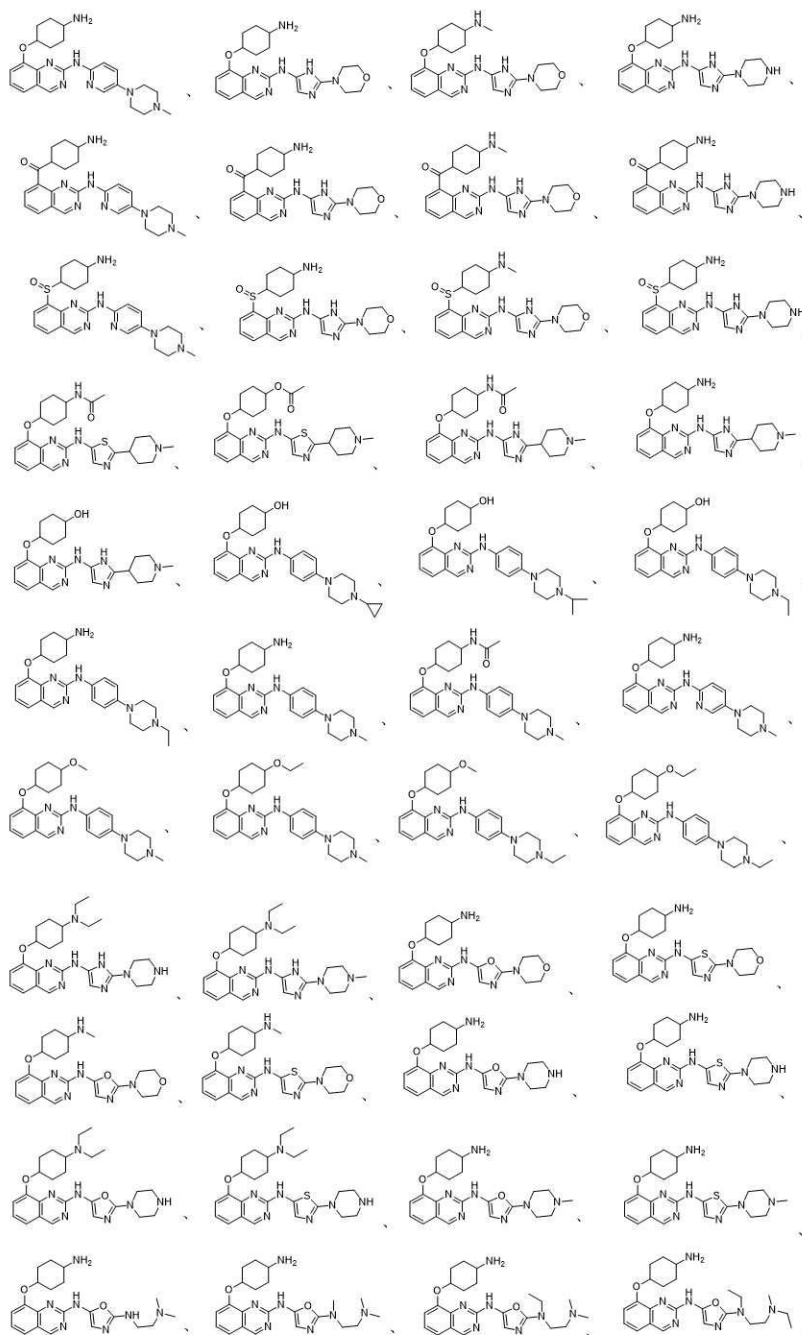
Y'는 C 또는 N이고, R^{7'}은 H, 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알킬 또는 치환 또는 비치환된 C₃₋₈시클로알킬이며, R^{8'}은 H, 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알킬 또는 치환 또는 비치환된 C₃₋₈시클로알킬이고, R^{9'} 및 R^{10'}은 독립적으로 H, 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알킬 또는 치환 또는 비치환된 C₃₋₈시클로알킬이며, R^{11'}은 H, 치환 또는 비치환된 아미노, 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알킬 또는 치환 또는 비치환된 C₃₋₈시클로알킬이고, R^{12'}는 치환 또는 비치환된 4-6원 헤테로시클릴인 것을 특징으로 하는 응용.

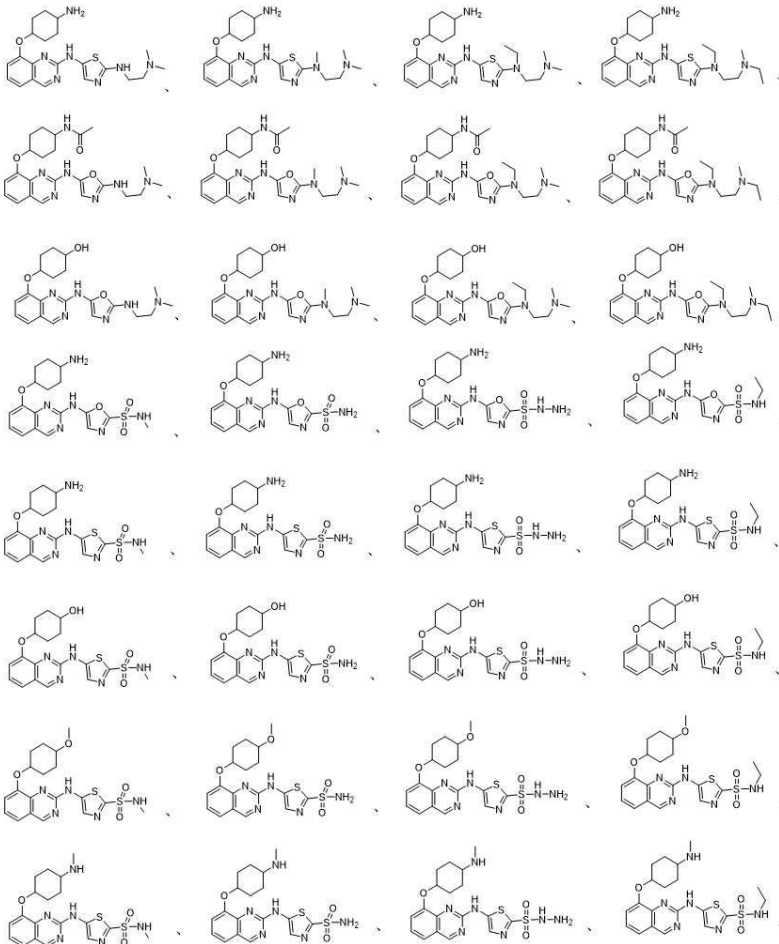
청구항 7

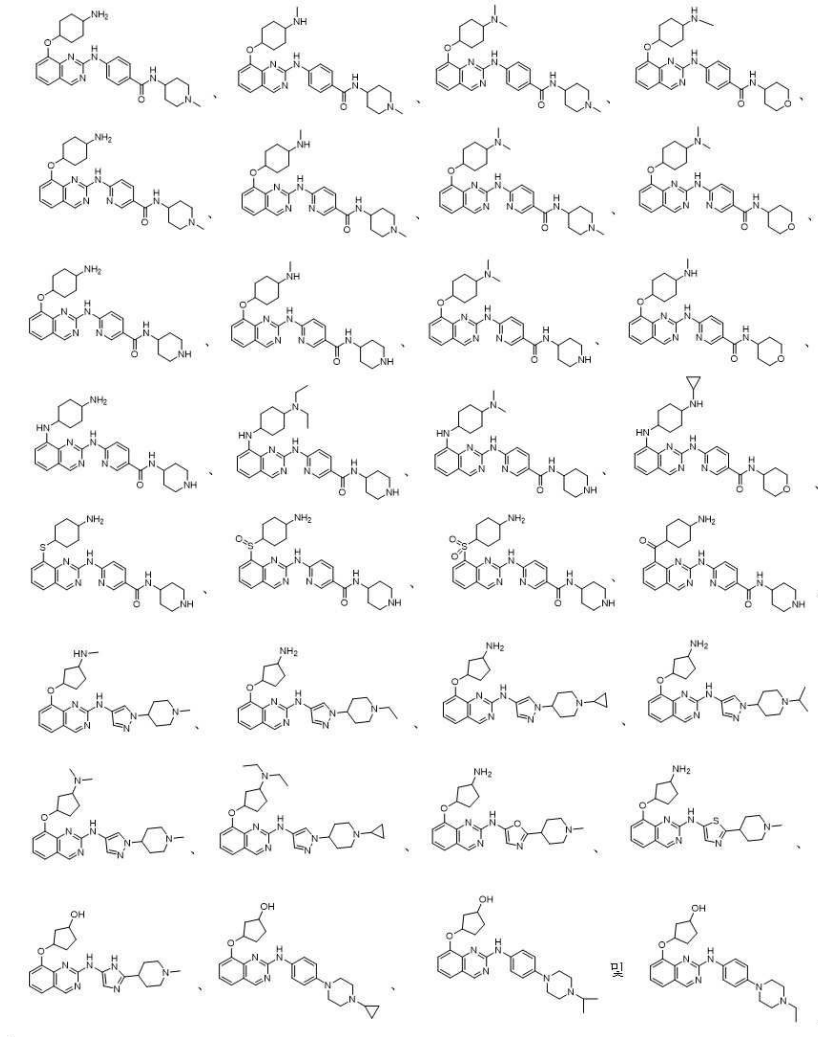
제3항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 화합물은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 응용:





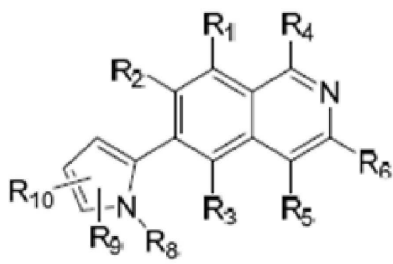




청구항 8

제3항에 있어서,

식 I로 표시되는 화합물은 하기 식 I-2로 표시되는 화합물이며,

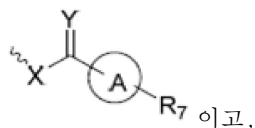


I-2

상기 식 I-2에서,

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소, 할로겐, 시아노, 히드록실, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_{3-6} 시클로알킬, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알콕시, 치환 또는 비치환된 아미노 또는 치환 또는 비치환된 아미도로부터 선택되고, R_1 및 R_2 는 수소가 아니며;

R_6 은



X는 O 또는 NH 또는 S이며, Y는 O 또는 NH 또는 S이고, A 고리는 치환 또는 비치환된 C₃₋₆시클로알킬 또는 치환 또는 비치환된 C₆₋₁₀아릴 또는 치환 또는 비치환된 C₅₋₁₀헤테로아릴이며, 상기 헤테로아릴은 하나 이상의 N, O 또는 S 헤테로원자를 포함하는 아릴을 의미하고, R₇은 각 유형의 고리 상의 단일 또는 다중 치환이며, 할로젠, 시아노, 히드록실, 아미노, 아미도, 분지쇄 또는 직쇄 C₁₋₆알킬, C₂₋₆알케닐, C₂₋₆알키닐, C₃₋₆헤테로시클릴, C₆₋₁₀아릴, C₅₋₁₀헤테로아릴 또는 -C(O)R' 을 포함하고, 상기 R' 은 C₃₋₆헤테로시클릴, C₆₋₁₀아릴 또는 C₅₋₁₀헤테로아릴이며, 상기 C₁₋₆알킬, C₂₋₆알케닐, C₂₋₆알키닐, C₃₋₆헤테로시클릴, C₆₋₁₀아릴 및 C₅₋₁₀헤테로아릴은 각 유형의 단일 또는 다중 치환을 더 포함하고, 수소, 히드록실, 할로젠, 시아노, 아미노, -CHF₂, -CF₃, -CH₃, -CH₂CH₂OH 또는 -CONH₂를 포함하며; 또는, R₇은 A 고리와 함께 치환 또는 비치환된 축합 시클릴, 브리지 시클릴, 헤테로브리지 시클릴, 스피로시클릴 또는 헤테로스피로시클릴을 형성하고;

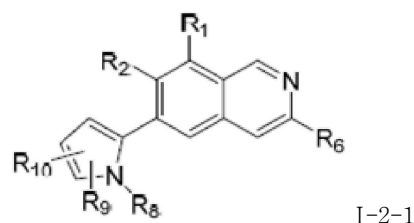
R₈, R₉ 및 R₁₀은 각각 독립적으로 다음의 i, ii, iii으로부터 선택되며,

- i. 수소, 히드록실, 할로젠, 시아노, 아미노, 디(C₁₋₆알킬)아미노, 모노(C₁₋₆알킬)아미노 또는 C₁₋₆알콕시;
- ii. 분지쇄 또는 직쇄 C₁₋₆알킬, C₂₋₆알케닐 또는 C₂₋₆알키닐, 여기서, 상기 알킬, 알케닐 및 알키닐은 각 유형의 단일 또는 다중 치환을 더 포함하고, 수소, 히드록실, 할로젠, 시아노, 아미노, -CHF₂, -CF₃, 디(C₁₋₆알킬)아미노, 모노(C₁₋₆알킬)아미노, C₃₋₆시클로알킬 또는 C₁₋₆알콕시를 포함하며;
- iii. C₃₋₆시클로알킬, C₃₋₆헤테로시클릴, C₆₋₁₀아릴 또는 C₅₋₁₀헤테로아릴, 여기서, 상기 시클로알킬, 헤테로시클릴, 아릴 또는 헤테로아릴은 각 유형의 단일 또는 다중 치환을 포함하고, 수소, C₁₋₆알킬, 히드록실, 할로젠, 시아노, 아미노, -CHF₂ 또는 -CF₃을 포함하는 것을 특징으로 하는 응용.

청구항 9

제8항에 있어서,

식 I-2로 표시되는 화합물은 식 I-2-1로 표시되며,

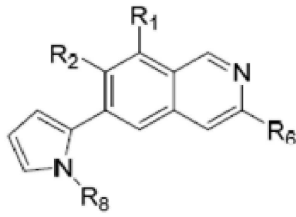


상기 식 I-2-1에서, R₁, R₂, R₆, R₈, R₉ 및 R₁₀은 각각 제6항에 정의된 바와 같은 것을 특징으로 하는 응용.

청구항 10

제8항에 있어서,

식 I-2로 표시되는 화합물은 식 I-2-2로 표시되며,



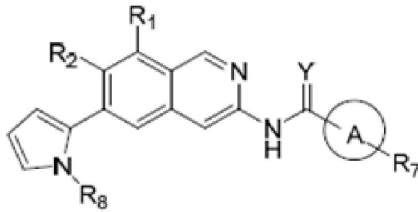
I-2-2

상기 식 I-2-2에서, R₁, R₂, R₆ 및 R₈은 각각 제8항에 정의된 바와 같은 것을 특징으로 하는 응용.

청구항 11

제8항에 있어서,

식 I-2로 표시되는 화합물은 식 I-2-3으로 표시되며,



I-2-3

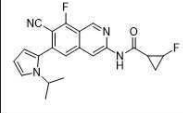
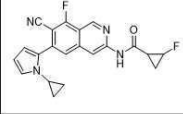
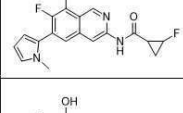
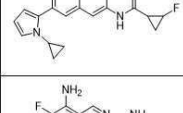
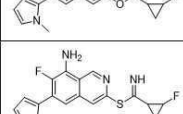
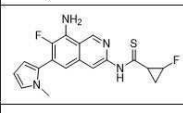
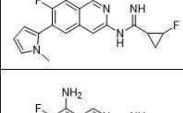
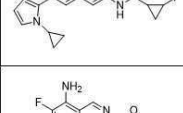
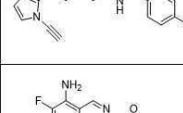
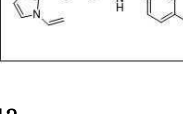
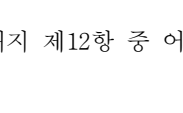
상기 식 I-2-3에서, R₁, R₂, R₈ 및 A 고리는 각각 제8항에 정의된 바와 같은 것을 특징으로 하는 응용.

청구항 12

제8항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 화합물은 다음으로부터 선택되는 응용:

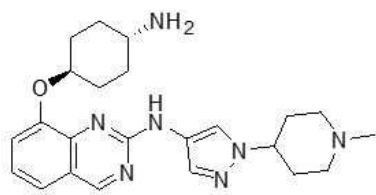
번호	화합물의 구조	명칭
1		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
2		N-(8-아미노-6-(1-에틸-1H-피롤-2-일)-7-플루오로이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
3		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-이소프로필-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
4		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-비닐-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
5		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-4-모르폴리노벤자미드
6		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-4-(피페라진-1-일)벤자미드
7		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-4-(4-메틸피페라진-1-일)벤자미드
8		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-5-(4-메틸피페라진-1-일)피리디놀린아미드
9		N-(8-아미노-6-(1-에틸-1H-피롤-2-일)-7-플루오로이소퀴놀린-3-일)-4-플루오로시클로헥산-1-포름아미드
10		N-(7-시아노-8-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
11		N-(7-시아노-6-(1-에틸-1H-피롤-2-일)-8-플루오로이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드

12		N-(7-시아노-8-플루오로-6-(1-이소프로필-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
13		N-(7-시아노-6-(1-시클로프로필-1H-피롤-2-일)-8-플루오로이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
14		2-플루오로-N-(7-플루오로-8-히드록시-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)시클로프로판-1-카르복사미드
15		N-(6-(1-시클로프로필-1H-피롤-2-일)-7-플루오로-8-히드록시이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
16		8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일 2-플루오로시클로프로판-1-카르바메이트
17		8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일 2-플루오로시클로프로판-1-카르보이미드티오에이트
18		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카보티오아미드
19		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
20		N-(8-아미노-6-(1-시클로프로필-1H-피롤-2-일)-7-플루오로이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
21		N-(8-아미노-6-(1-에틸닐-1H-피롤-2-일)-7-플루오로이소퀴놀린-3-일)-4-(4-메틸피페라진-1-일)벤자미드
22		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-비닐-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-4-(4-메틸피페라진-1-일)벤자미드

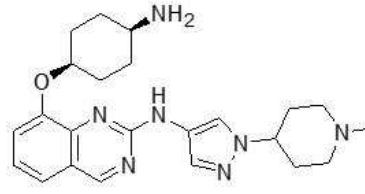
청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

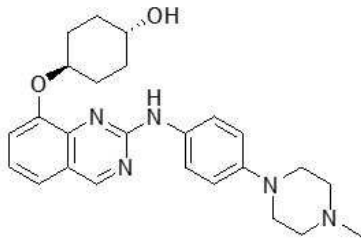
상기 화합물은,



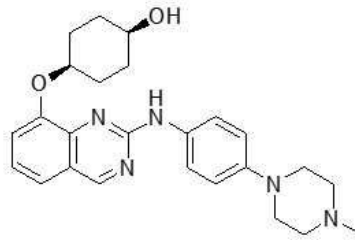
C1



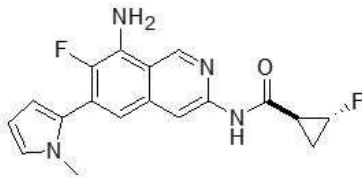
C2



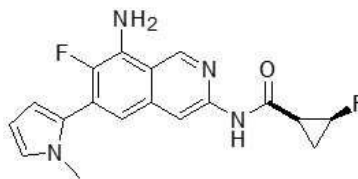
C3



C4



C5



C6

인 것을 특징으로 하는 응용.

청구항 14

제2항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 바이러스는 B형 간염 바이러스(Hepatitis B virus), 홍역 바이러스(Measles Virus), 신드비스 바이러스(Sindbis Virus), 웨스트 나일 바이러스(West Nile Virus), 뎅기 바이러스(Dengue Virus), 포진 바이러스(Herpes Simplex Virus), 인간 거대세포 바이러스(Human Cytomegalovirus HCMV), 에볼라 바이러스(Ebola Virus), C형 간염 바이러스(HCV), 인플루엔자 바이러스(Influenza A Virus), 중증급성호흡기증후군 바이러스(SARS-CoV), 지카 바이러스(Zika Virus), 에이즈 바이러스(HIV), 고양이 전염성 복막염 바이러스(Feline Infectious Peritonitis Virus), 마우스 간염 바이러스(Mouse Hepatitis Virus), 개 코로나바이러스(Canine Coronavirus), 고양이 칼리시바이러스(Feline Calicivirus), 고양이 백혈병 바이러스(Feline Leukemia Virus), 고양이 에이즈 바이러스(Feline Immunodeficiency Virus), 고양이 범백혈구감소증 바이러스(Feline Panleukopenia Virus), 닭 전염성 기관지염 바이러스(Avian Infectious Bronchitis Virus), 돼지 전염성 위장염 바이러스(Transmissible Gastroenteritis Virus), 돼지 유행성 설사 바이러스(Porcine Epidemic Diarrhea Virus), 돼지 혈구응집성 뇌척수염 바이러스(Porcine Hemagglutinating Encephalomyelitis Virus), 소 코로나 바이러스(Bovine Coronavirus) 등, 바람직하게는 고양이 전염성 복막염 바이러스(Feline Infectious Peritonitis Virus), 마우스 간염 바이러스(Mouse Hepatitis Virus), 포진 바이러스, 중증급성호흡기증후군 바이러스, 지카 바이러스, 개 코로나바이러스, 고양이 칼리시바이러스, 닭 전염성 기관지염 바이러스, 돼지 유행성 설사 바이러스로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 응용.

청구항 15

약학적 조성물로서,

상기 약학적 조성물은 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 입체 이성질체, 호변 이성질체, 프로드러그, 대사산물 또는 유도체 및 하나 이상의 다른 항바이러스 약물, 및 선택적인 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 생물학적 분야에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 인터페론 관련 질환의 치료, 특히 IFN- β 신호 전달 경로의 복원 또는 강화에 의한 바이러스 감염 치료에서 HPK1 억제제의 응용에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 미토겐 활성화 단백질 키나아제 키나아제 키나아제 키나아제(MAP4K1)로도 알려진 조혈전구키나아제 1(HPK1)은 세린/트레오닌 단백질 키나아제이다. 이는 미토겐 활성화 단백질 키나아제 신호 전달, 핵 인자 κ B 신호 전달, 시토카인 신호 전달, 세포 증식 및 사멸, T세포 수용체/B 세포 수용체 신호 전달 및 T/B/수지상 세포 매개 면역 반응을 포함하는 다양한 세포 이벤트(Cellular Events)에 참여한다. HPK1은 주로 혈액 세포에 발현된다. T 세포에서, HPK1은 T세포 수용체(TCR) 신호의 음성 조절자이며 면역 응답 억제를 담당한다. TCR 활성화로 인해 HPK1이 세포막에 모집된 후 Tyr281/Ser171/Thr165 부위의 인산화를 통해 활성화된다. 활성화된 HPK1은 SLP76 단백질의 Ser276 부위의 인산화를 통해 TCR 신호 복합체를 불안정하게 하여 T 세포의 활성화 및 증식을 억제한다. 이와 동시에, HPK1 활성화는 인터페론 γ (IFN- γ)의 분비도 억제한다. 일련의 중앙 면역 동물 모델에서, HPK1 녹아웃/녹다운, 또는 HPK1 억제제의 사용은 모두 면역계에 대한 HPK1의 억제를 효과적으로 방지하고 신체 면역을 향상시켜 항종양 효과를 강화할 수 있다(Hernandez et al., Cell Reports, 2018). 또한, 림프구성 맥락 수막염 바이러스(lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV)에 감염된 마우스에서, 감염 21일 후 HPK1 녹다운 마우스 혈장 내 바이러스 역가는 야생형 마우스보다 현저히 낮으며, 이는 HPK1 활성을 억제하는 것이 새로운 항 바이러스 치료 경로가 될 수 있음을 제시한다. 얀센 주식회사(Janssen Sciences Ireland Unlimited Company)가 출원한 특허(WO2020255022)에 따르면, B형 간염 백신(HBV) 및 HPK1 소분자 억제제를 병용 사용하는 것이 B형 간염을 치료하는 효과적인 방법일 수 있음을 나타냈다.

[0003] 상기 연구 기반에도 불구하고, 지금까지 HPK1 키나아제와 바이러스 감염의 내재적 메커니즘은 밝혀지지 않았으며; 동시에 HPK1 소분자 억제제를 바이러스 관련 질환 치료용 광범위한 항바이러스 약물(비백신 보강제)로서 단독으로 또는 병용 사용하는 것을 탐구한 보고가 없다.

발명의 내용

[0004] 본 발명은 일련의 신규 HPK1 억제제를 제공하는 것을 목적으로 하며, 이러한 HPK1 억제제는 인터페론 관련 질환, 특히 바이러스 감염의 치료 약물로 사용될 수 있다.

[0005] 제1 양태에서, 본 발명은 인터페론 관련 질환을 치료하거나 면역력을 향상시키기 위한 약물의 제조에서 HPK1 억제제의 응용을 제공한다.

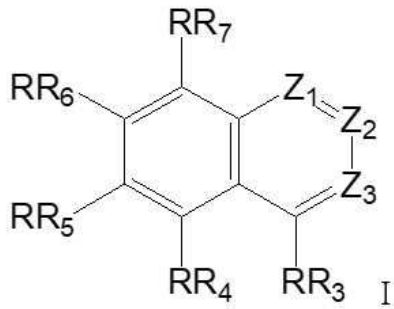
[0006] 바람직한 실시형태에서, 상기 인터페론은 IFN- β 및/또는 IFN- γ 이다.

[0007] 바람직한 실시형태에서, 상기 약물은 IFN- β 및/또는 IFN- γ 신호 전달 경로 강화제이다.

[0008] 구체적인 실시형태에서, 상기 인터페론 관련 질환은 바이러스 감염이다.

[0009] 바람직한 실시형태에서, 상기 바이러스 감염은 IFN- β /IFN- γ 가 이에 치료 및/또는 예방 작용이 있는 바이러스 감염이다.

[0010] 구체적인 실시형태에서, HPK1 억제제는 식 I로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 입체 이성질체, 호변 이성질체, 프로드러그, 대사산물 또는 유도체이며,



[0011]

[0012]

상기 식 I에서, Z₁은 N 또는 C-RR₁로부터 선택되고;

[0013]

Z₂ 및 Z₃은 각각 N 또는 C-RR₂로부터 선택되며, Z₂ 및 Z₃은 상이하며;

[0014]

RR₁은 수소, 할로젠, 시아노, 히드록실, 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알킬, 치환 또는 비치환된 C₃₋₆시클로알킬, 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알콕시, 치환 또는 비치환된 아미노 또는 치환 또는 비치환된 아미도로부터 선택되고;

[0015]

RR₂는 치환 또는 비치환된 히드록실, 치환 또는 비치환된 아미노, 또는 치환 또는 비치환된 술폰히드릴로부터 선택되며;

[0016]

RR₃은 H, 히드록실, 할로젠, 시아노, 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알킬, 치환 또는 비치환된 C₃₋₈시클로알킬, 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알콕시, 치환 또는 비치환된 아미노 또는 치환 또는 비치환된 아미도로부터 선택되고;

[0017]

RR₄, RR₅, RR₆, RR₇은 각각 독립적으로 H, 히드록실, 할로젠, 시아노, 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알킬, 치환 또는 비치환된 C₃₋₈시클로알킬, 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알콕시, 치환 또는 비치환된 아미노, 치환 또는 비치환된 아미도, 치환 또는 비치환된 C₅₋₁₀헤테로아릴 또는 RR₈-Z₄-로부터 선택되며;

[0018]

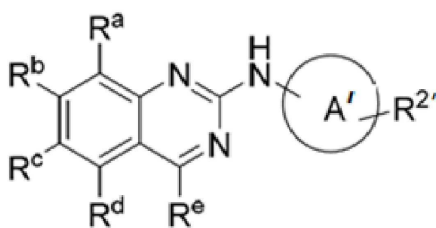
RR₈은 치환 또는 비치환된 알킬, 치환 또는 비치환된 시클로알킬, 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴 또는 치환 또는 비치환된 히드록실로부터 선택되고;

[0019]

Z₄는 -O-, -NH-, -S-, -SO-, -SO₂-, 카르보닐, 카르보닐아미노 또는 아미노카르보닐로부터 선택된다.

[0020]

구체적인 실시형태에서, 식 I로 표시되는 화합물은 하기 식 I-1로 표시되는 화합물이며,



[0021]

I-1

[0022]

상기 식 I-1에서, R^a, R^b, R^c, R^d 중 하나는 R^{1'}-X' -이고, 나머지는 각각 독립적으로 H, 히드록실, 할로젠, 시아노, 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알킬, 치환 또는 비치환된 C₃₋₈시클로알킬 또는 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알콕시로부터 선택되며;

[0023]

R^e는 H, 히드록실, 할로젠, 시아노, 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알킬, 치환 또는 비치환된 C₃₋₈시클로알킬, 또는 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알콕시로부터 선택되고;

[0024]

X' 는 -O-, -NH-, -S-, -SO-, -SO₂-, 카르보닐, 카르보닐아미노 또는 아미노카르보닐로부터 선택되며;

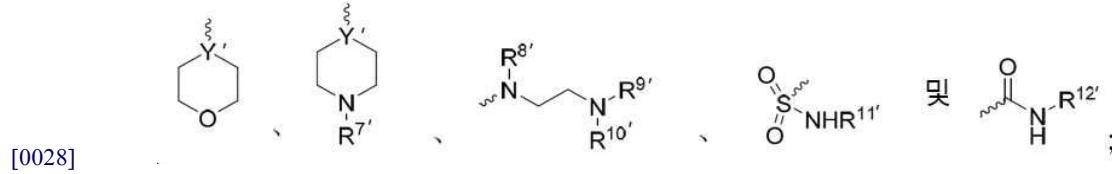
[0025]

R^{1'} 은 치환 또는 비치환된 시클로알킬, 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴 또는 R^{14'}-O-(CH₂)_m-이되, m은 0, 1,

2, 3, 4 또는 5이고, R^{14} 는 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이며;

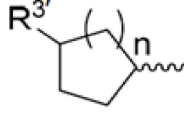
[0026] A' 고리는 치환 또는 비치환된 아릴(바람직하게는 치환 또는 비치환된 페닐) 또는 치환 또는 비치환된 5-6원 헤테로아릴이되, 상기 헤테로아릴은 O, S 또는 N으로부터 선택되는 1~4개의 헤테로원자를 갖고;

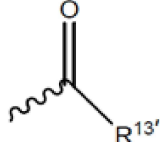
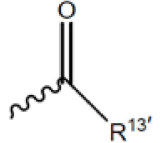
[0027] $R^{2'}$ 는 다음과 같은 치환기로부터 선택되되,



[0029] Y' 는 C 또는 N이고, $R^{7'}$ 은 H, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이며, $R^{8'}$ 은 H, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이고, $R^{9'}$ 및 $R^{10'}$ 은 독립적으로 H, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이며, $R^{11'}$ 은 H, 치환 또는 비치환된 아미노, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이고, $R^{12'}$ 는 치환 또는 비치환된 4-6원 헤테로시클릴이다.

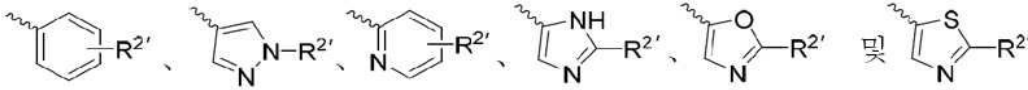
[0030] 바람직한 실시형태에서, 상기 $R^{1'}$ 은 치환 또는 비치환된 5-8원 시클로알킬 또는 치환 또는 비치환된 5-8원 헤테로시클릴이되, 상기 헤테로시클릴은 O, S 또는 N으로부터 선택되는 1~4개의 헤테로원자를 갖는다.

[0031] 바람직한 실시형태에서, $R^{1'}$ 이 치환된 5-8원 시클로알킬일 경우, 상기 $R^{1'}$ 은 이되, n은 1, 2, 3 또는 4이고;

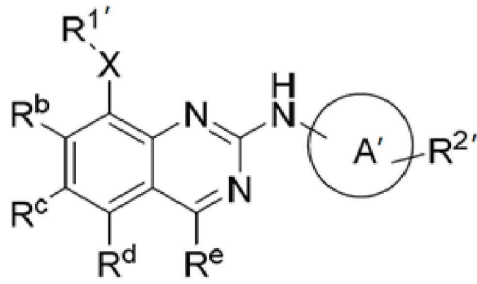
[0032] 상기 $R^{3'}$ 은 $-O^{R^{4'}}$ 또는 $-NR^{5'}R^{6'}$ 이되, $R^{4'}$ 은 H, , 치환 또는 비치환된 알킬, 또는 치환 또는 비치환된 시클로알킬, $R^{5'}$ 및 $R^{6'}$ 은 독립적으로 H, , 치환 또는 비치환된 알킬, 또는 치환 또는 비치환된 시클로알킬이되, $R^{5'}$ 및 $R^{6'}$ 은 동시에 치환 또는 비치환된 시클로알킬이 아니다.

[0033] 상기 $R^{13'}$ 은 H, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이다.

[0034] 바람직한 실시형태에서, 상기 A 고리는

[0035] 로부터 선택된다.

[0036] 구체적인 실시형태에서, 식 I-1로 표시되는 화합물은 식 I-1-1로 표시되며,



I-1-1

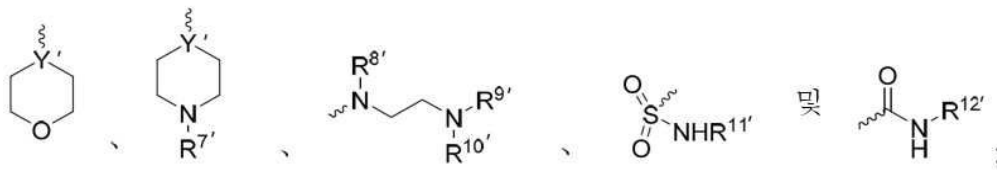
상기 식 I-1-1에서, R^b , R^c , R^d , R^e 는 각각 독립적으로 H, 히드록실, 할로젠, 시아노, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알콕시로부터 선택되고;

X' 는 $-O-$, $-NH-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, 카르보닐, 카르보닐아미노 또는 아미노카르보닐로부터 선택되며;

$R^{1'}$ 은 치환 또는 비치환된 시클로알킬, 치환 또는 비치환된 헤테로시클릴 또는 $R^{14'}-O-(CH_2)_m-$ 이되, m 은 0, 1, 2, 3, 4 또는 5이고, $R^{14'}$ 는 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이며;

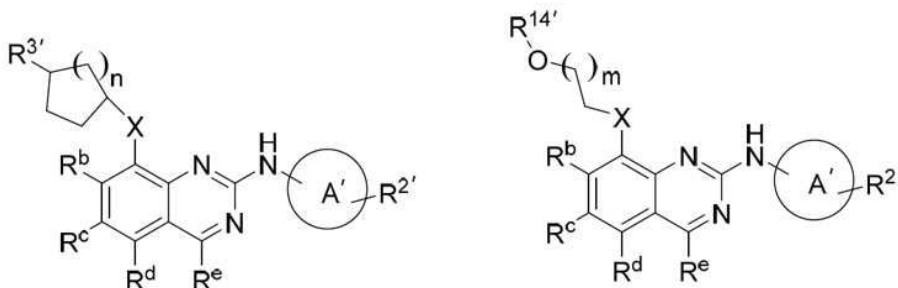
A' 고리는 치환 또는 비치환된 아릴(바람직하게는 치환 또는 비치환된 페닐) 또는 치환 또는 비치환된 5-6원 헤테로아릴이되, 상기 헤테로아릴은 O, S 또는 N으로부터 선택되는 1~4개의 헤테로원자를 갖고;

$R^{2'}$ 는 다음과 같은 치환기로부터 선택되되,



Y' 는 C 또는 N이고, $R^{7'}$ 은 H, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이며, $R^{8'}$ 은 H, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이고, $R^{9'}$ 및 $R^{10'}$ 은 독립적으로 H, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이며, $R^{11'}$ 은 H, 치환 또는 비치환된 아미노, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬이고, $R^{12'}$ 는 치환 또는 비치환된 4-6원 헤테로시클릴이다.

구체적인 실시형태에서, 식 I-1로 표시되는 화합물은 식 I-1-1-1 또는 I-1-1-2로 표시되며,



I-1-1-1 I-1-1-2

상기 식 I-1-1-1 또는 I-1-1-2에서, R^b , R^c , R^d , R^e 는 각각 독립적으로 H, 히드록실, 할로젠, 시아노, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_{3-8} 시클로알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알콕시로부터 선택되고;

[0049] X는 -O-, -NH-, -S-, -SO-, -SO₂-, 카르보닐, 카르보닐아미노 또는 아미노카르보닐로부터 선택되며;

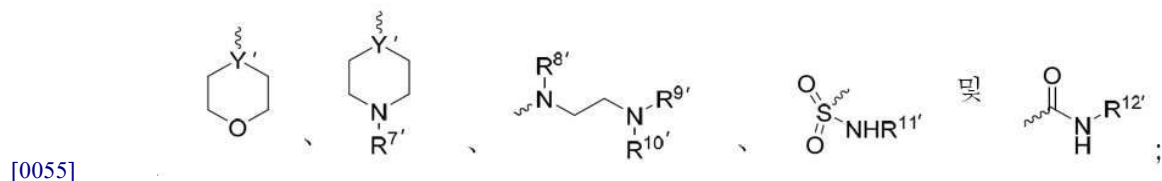
[0050] n은 1, 2, 3 또는 4이고,

[0051] m은 0, 1, 2, 3, 4 또는 5이며,

[0052] R^{14'}는 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알킬 또는 치환 또는 비치환된 C₃₋₈시클로알킬이고;

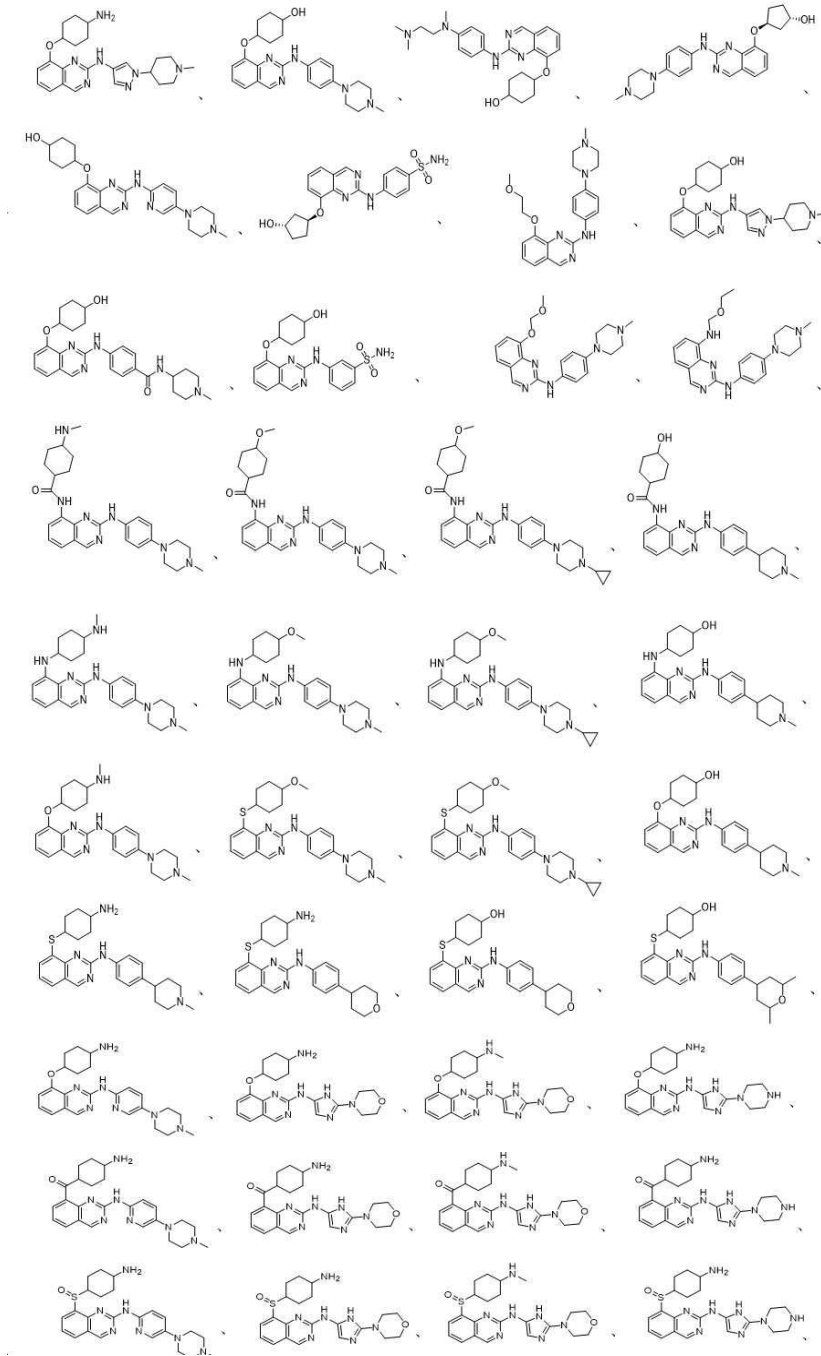
[0053] A' 고리는 치환 또는 비치환된 아릴(바람직하게는 치환 또는 비치환된 페닐) 또는 치환 또는 비치환된 5-6원 헤테로아릴이되, 상기 헤테로아릴은 O, S 또는 N으로부터 선택되는 1~4개의 헤테로원자를 가지며;

[0054] R^{2'}는 다음과 같은 치환기로부터 선택되되,

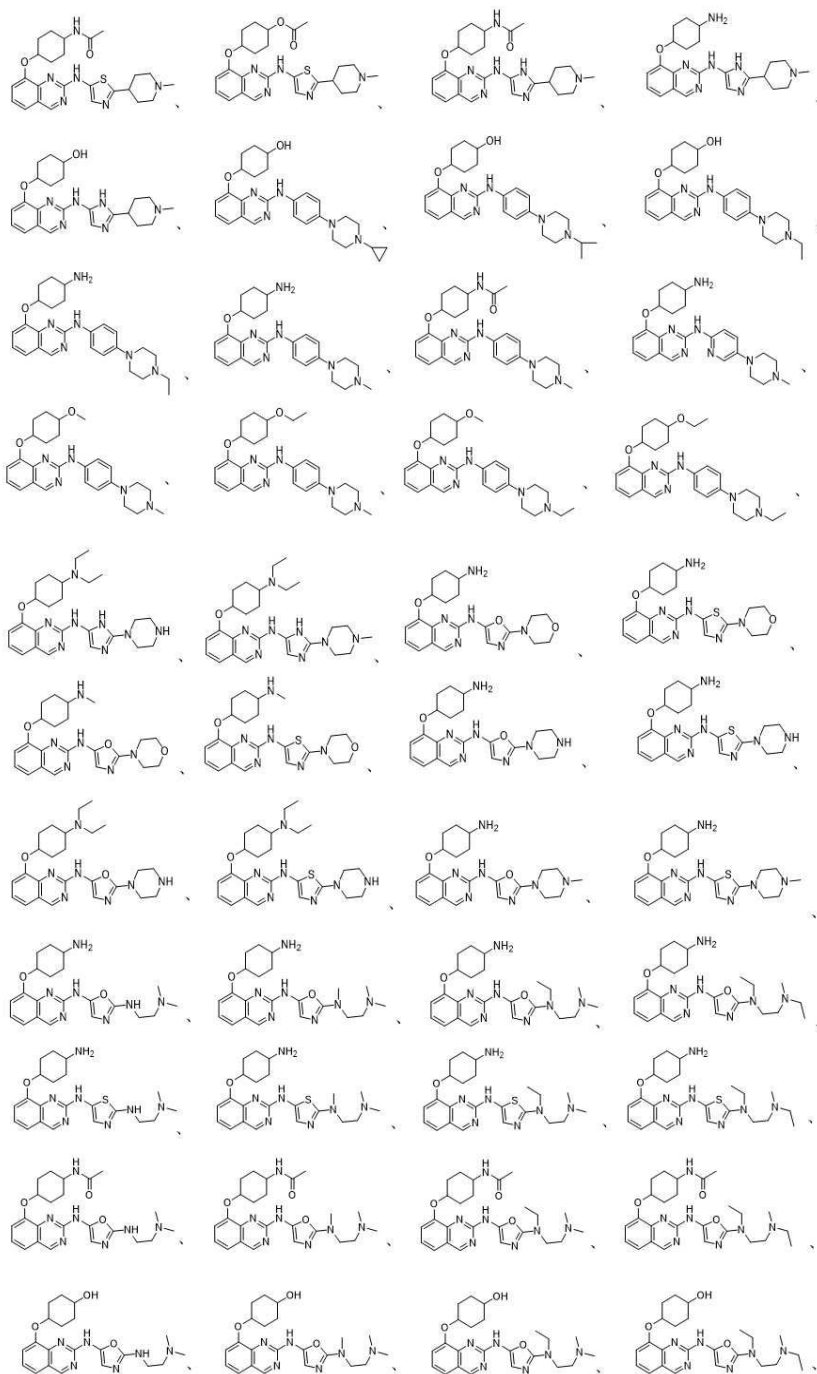


[0056] Y'는 C 또는 N이고, R^{7'}은 H, 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알킬 또는 치환 또는 비치환된 C₃₋₈시클로알킬이며, R^{8'}은 H, 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알킬 또는 치환 또는 비치환된 C₃₋₈시클로알킬이고, R^{9'} 및 R^{10'}은 독립적으로 H, 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알킬 또는 치환 또는 비치환된 C₃₋₈시클로알킬이며, R^{11'}은 H, 치환 또는 비치환된 아미노, 치환 또는 비치환된 C₁₋₆알킬 또는 치환 또는 비치환된 C₃₋₈시클로알킬이고, R^{12'}는 치환 또는 비치환된 4-6원 헤테로시클릴이다.

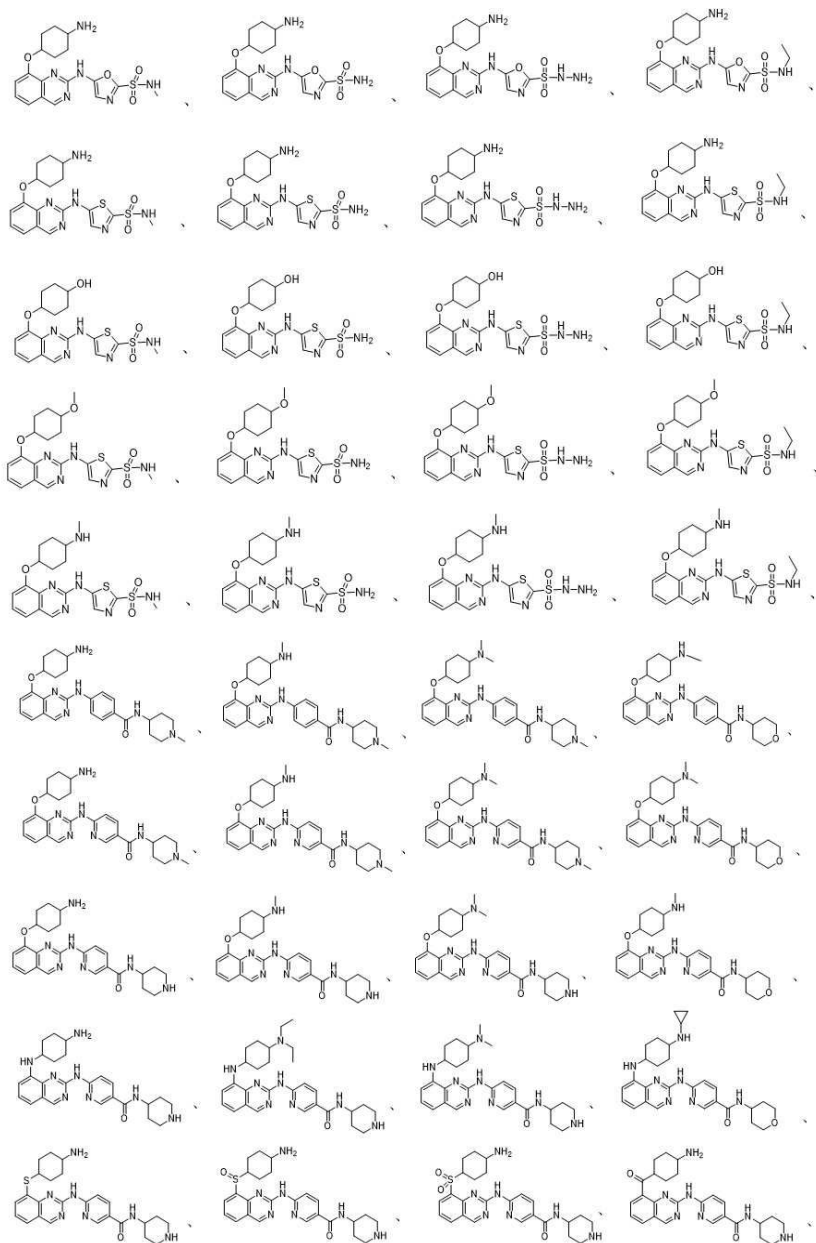
[0057] 구체적 실시형태에서, 상기 화합물은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다:



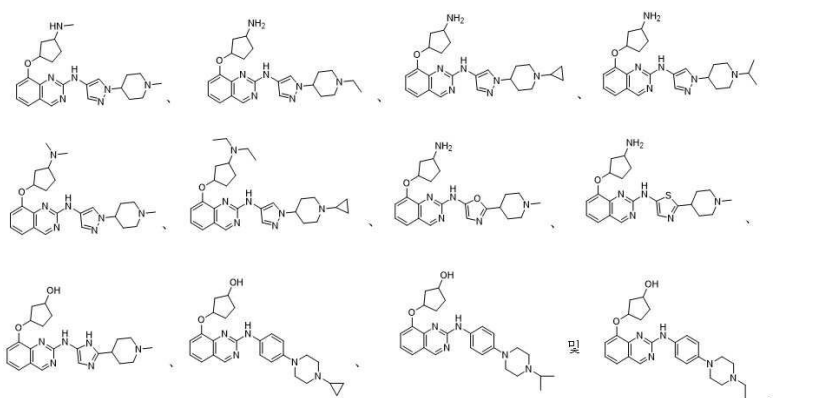
[0058]



[0059]



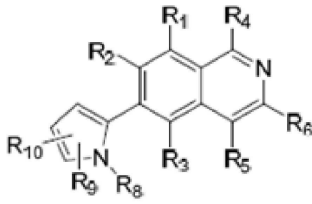
[0060]



[0061]

[0062]

구체적인 실시형태에서, 식 I로 표시되는 화합물은 하기 식 I-2로 표시되는 화합물이며,

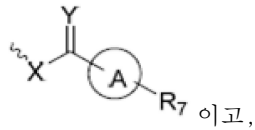


I-2

상기 식 I-2에서,

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소, 할로젠, 시아노, 히드록실, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_{3-6} 시클로알킬, 치환 또는 비치환된 C_{1-6} 알콕시, 치환 또는 비치환된 아미노 또는 치환 또는 비치환된 아미도로부터 선택되고, R_1 및 R_2 는 수소가 아니며;

R_6 은



X 는 O 또는 NH 또는 S이며, Y 는 O 또는 NH 또는 S이고, A 고리는 치환 또는 비치환된 C_{3-6} 시클로알킬 또는 치환 또는 비치환된 C_{6-10} 아릴 또는 치환 또는 비치환된 C_{5-10} 헤테로아릴이며, 상기 헤테로아릴은 하나 이상의 N, O 또는 S 헤테로원자를 포함하는 아릴을 의미하고, R_7 은 각 유형의 고리 상의 단일 또는 다중 치환이며, 할로젠, 시아노, 히드록실, 아미노, 아미도, 분지쇄 또는 직쇄 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{3-6} 헤테로시클릴, C_{6-10} 아릴, C_{5-10} 헤테로아릴 또는 $-C(O)R'$ 을 포함하고, 상기 R' 은 C_{3-6} 헤테로시클릴, C_{6-10} 아릴 또는 C_{5-10} 헤테로아릴이며, 상기 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, C_{3-6} 헤테로시클릴, C_{6-10} 아릴 및 C_{5-10} 헤테로아릴은 각 유형의 단일 또는 다중 치환을 더 포함하고, 수소, 히드록실, 할로젠, 시아노, 아미노, $-CHF_2$, $-CF_3$, $-CH_3$, $-CH_2CH_2OH$ 또는 $-CONH_2$ 를 포함하며; 또는, R_7 은 A 고리와 함께 치환 또는 비치환된 축합 시클릴, 브리지 시클릴, 헤테로브리지 시클릴, 스피로시클릴 또는 헤테로스피로시클릴을 형성하고;

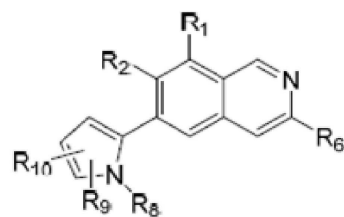
R_8 , R_9 및 R_{10} 은 각각 독립적으로 다음의 i, ii, iii으로부터 선택되며,

i. 수소, 히드록실, 할로젠, 시아노, 아미노, 디(C_{1-6} 알킬)아미노, 모노(C_{1-6} 알킬)아미노 또는 C_{1-6} 알콕시;

ii. 분지쇄 또는 직쇄 C_{1-6} 알킬, C_{2-6} 알케닐 또는 C_{2-6} 알키닐, 여기서, 상기 알킬, 알케닐 및 알키닐은 각 유형의 단일 또는 다중 치환을 더 포함하고, 수소, 히드록실, 할로젠, 시아노, 아미노, $-CHF_2$, $-CF_3$, 디(C_{1-6} 알킬)아미노, 모노(C_{1-6} 알킬)아미노, C_{3-6} 시클로알킬 또는 C_{1-6} 알콕시를 포함하며;

iii. C_{3-6} 시클로알킬, C_{3-6} 헤테로시클릴, C_{6-10} 아릴 또는 C_{5-10} 헤테로아릴, 여기서, 상기 시클로알킬, 헤테로시클릴, 아릴 또는 헤테로아릴은 각 유형의 단일 또는 다중 치환을 포함하고, 수소, C_{1-6} 알킬, 히드록실, 할로젠, 시아노, 아미노, $-CHF_2$ 또는 $-CF_3$ 을 포함한다.

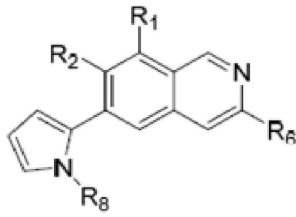
구체적인 실시형태에서, 식 I-2로 표시되는 화합물은 식 I-2-1로 표시되며,



I-2-1

상기 식 I-2-1에서, R_1 , R_2 , R_6 , R_8 , R_9 및 R_{10} 은 각각 위에 정의된 바와 같다.

[0076] 구체적 실시형태에서, 식 I-2로 표시되는 화합물은 식 I-2-2로 표시되며,



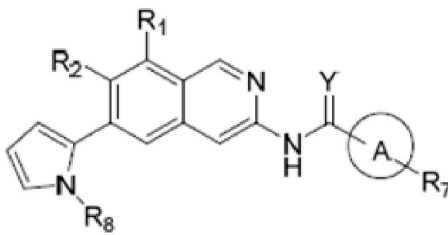
[0077]

[0078] I-2-2

[0079] 상기 식 I-2-2에서, R₁, R₂, R₆ 및 R₈은 각각 위에 정의된 바와 같다.

[0080] 바람직한 실시형태에서, X는 NH이다.

[0081] 구체적 실시형태에서, 식 I-2로 표시되는 화합물은 식 I-2-3으로 표시되며,

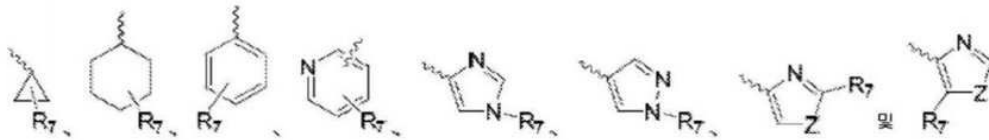


[0082]

[0083] I-2-3

[0084] 상기 식 I-2-3에서, R₁, R₂, R₈ 및 A 고리는 각각 위에 정의된 바와 같다.

[0085] 바람직한 실시형태에서, 상기 A 고리는

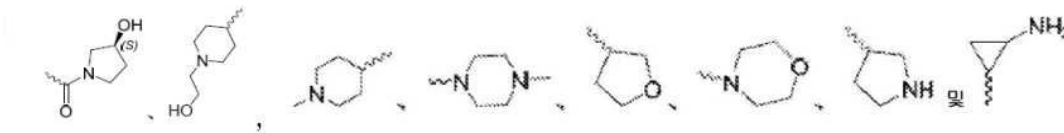


[0086]

로부터 선택되며,

[0087] Z는 O 또는 S이다.

[0088] 바람직한 실시형태에서, R₇은 할로젠, 시아노, 히드록실, 아미노, 아미도, 메틸, 에틸, 이소프로필, 시클로프로필, 비닐, 에틸닐,

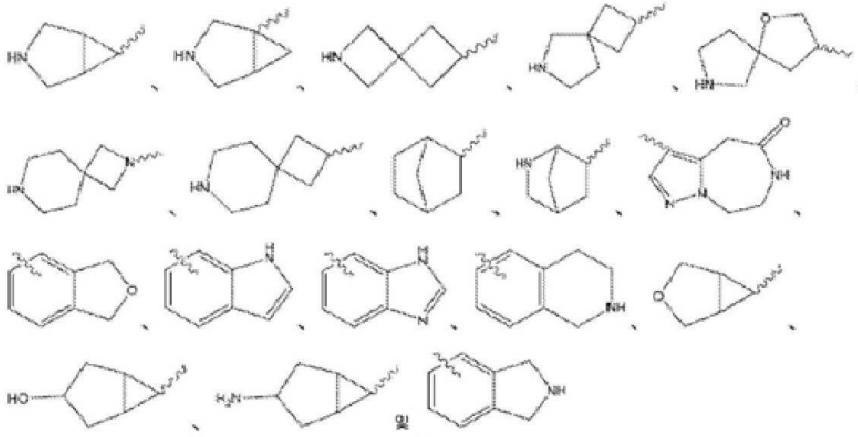


[0089]

로부터 선택된

다.

[0090] 바람직한 실시형태에서, 상기 A 고리는 R₇과 함께 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 선택적으로 치환된 축합 시클릴, 브리지 시클릴, 헤테로브리지 시클릴, 스피로시클릴 또는 헤테로스피로시클릴을 형성한다.



[0091]

[0092]

바람직한 실시형태에서, 상기 R₁은 아미노, 히드록실, 시아노, 메톡시 또는 할로겐 치환기이다.

[0093]

바람직한 실시형태에서, R₆은 메틸, 에틸, 이소프로필, 시클로프로필, 비닐, 에틸닐 또는 치환 또는 비치환된 아릴(바람직하게는 페닐) 또는 5원 헤테로아릴이다.

[0094]

바람직한 실시형태에서, R₈은 메틸, 에틸, 이소프로필, 시클로프로필, 치환 또는 비치환된 페닐이다.

[0095] 구체적 실시형태에서, 상기 화합물은 다음으로부터 선택된다.

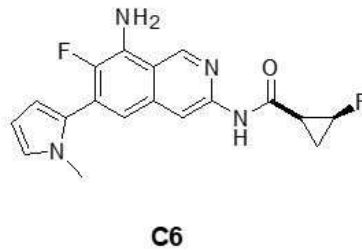
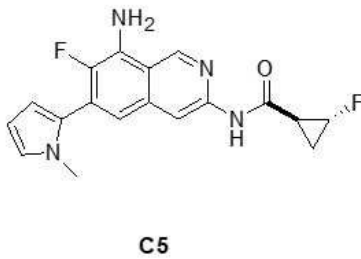
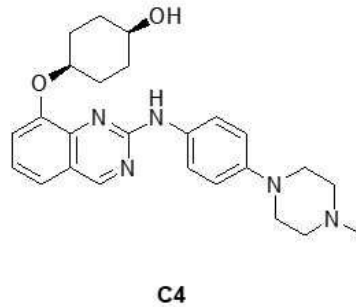
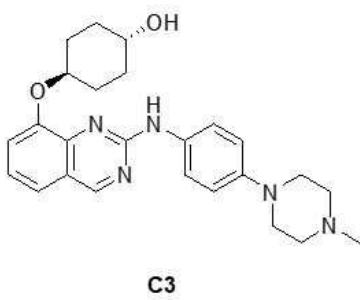
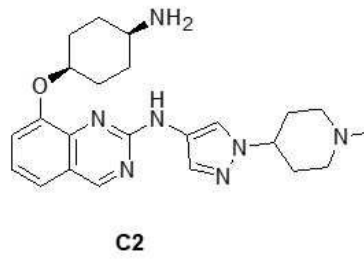
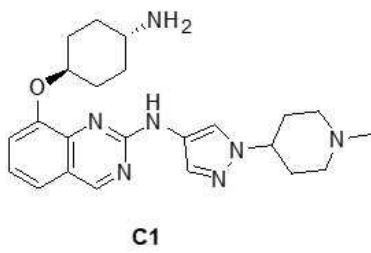
번호	화합물의 구조	명칭
1		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
2		N-(8-아미노-6-(1-에틸-1H-피롤-2-일)-7-플루오로이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
3		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-이소프로필-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
4		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-비닐-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
5		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-4-모르폴리노벤자미드
6		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-4-(피페라진-1-일)벤자미드
7		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-4-(4-메틸피페라진-1-일)벤자미드
8		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-5-(4-메틸피페라진-1-일)피리디놀린아미드
9		N-(8-아미노-6-(1-에틸-1H-피롤-2-일)-7-플루오로이소퀴놀린-3-일)-4-플루오로시클로헥산-1-포름아미드
10		N-(7-시아노-8-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
11		N-(7-시아노-6-(1-에틸-1H-피롤-2-일)-8-플루오로이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드

[0096]

12		N-(7-시아노-8-플루오로-6-(1-이소프로필-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
13		N-(7-시아노-6-(1-시클로프로필-1H-피롤-2-일)-8-플루오로이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
14		2-플루오로-N-(7-플루오로-8-히드록시-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)시클로프로판-1-카르복사미드
15		N-(6-(1-시클로프로필-1H-피롤-2-일)-7-플루오로-8-히드록시이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
16		8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일 2-플루오로시클로프로판-1-카르바메이트
17		8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일 2-플루오로시클로프로판-1-카르보이미디티오에이트
18		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카보티오아미드
19		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
20		N-(8-아미노-6-(1-시클로프로필-1H-피롤-2-일)-7-플루오로이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-카르복사미드
21		N-(8-아미노-6-(1-에티닐-1H-피롤-2-일)-7-플루오로이소퀴놀린-3-일)-4-(4-메틸피페라진-1-일)벤자미드
22		N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-비닐-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-4-(4-메틸피페라진-1-일)벤자미드

[0097]

[0098] 구체적 실시형태에서, 상기 화합물은,



[0099]

[0100] 이다.

[0101] 구체적 실시형태에서, 상기 바이러스는 B형 간염 바이러스(Hepatitis B virus), 홍역 바이러스(Measles Virus), 신드비스 바이러스(Sindbis Virus), 웨스트 나일 바이러스(West Nile Virus), 땡기 바이러스(Dengue Virus), 포진 바이러스(Herpes Simplex Virus), 인간 거대세포 바이러스(Human Cytomegalovirus HCMV), 에볼라 바이러스(Ebola Virus), C형 간염 바이러스(HCV), 인플루엔자 바이러스(Influenza A Virus), 중증급성호흡기증후군 바이러스(SARS-CoV), 지카 바이러스(Zika Virus), 에이즈 바이러스(HIV), 고양이 전염성 복막염 바이러스(Feline Infectious Peritonitis Virus), 마우스 간염 바이러스(Mouse Hepatitis Virus), 개 코로나바이러스(Canine Coronavirus), 고양이 칼리시바이러스(Feline Calicivirus), 고양이 백혈병 바이러스(Feline Leukemia Virus), 고양이 에이즈 바이러스(Feline Immunodeficiency Virus), 고양이 범백혈구감소증 바이러스(Feline Panleukopenia Virus), 닭 전염성 기관지염 바이러스(Avian Infectious Bronchitis Virus), 돼지 전염성 위장염 바이러스(Transmissible Gastroenteritis Virus), 돼지 유행성 설사 바이러스(Porcine Epidemic Diarrhea Virus), 돼지 혈구응집성 뇌척수염 바이러스(Porcine Hemagglutinating Encephalomyelitis Virus), 소 코로나 바이러스(Bovine Coronavirus) 등, 바람직하게는 고양이 전염성 복막염 바이러스(Feline Infectious Peritonitis Virus), 마우스 간염 바이러스(Mouse Hepatitis Virus), 포진 바이러스, 중증급성호흡기증후군 바이러스, 지카 바이러스, 고양이 전염성 복막염 바이러스, 개 코로나바이러스, 고양이 칼리시바이러스, 닭 전염성 기관지염 바이러스, 돼지 유행성 설사 바이러스로부터 선택된다.

[0102] 제2 양태에서, 본 발명은 약학적 조성물을 제공하고, 상기 약학적 조성물은 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 입체 이성질체, 호변 이성질체, 프로드러그, 대사산물 또는 유도체 및 하나 이상의 다른 항바이러스 약물, 및 선택적인 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함한다.

[0103] 제3 양태에서, 본 발명은 인터페론 관련 질환의 치료 약물로 사용하기 위한 본 발명의 화합물을 제공한다.

[0104] 제4 양태에서, 본 발명은 인터페론 관련 질환의 치료 방법을 제공하고, 치료적 유효량의 본 발명의 화합물 또는 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하는 단계를 포함한다.

[0105] 본 발명의 범위 내에서 본 발명의 상기 각 기술특징과 하기(예를 들어, 실시예)에서 구체적으로 설명되는 각 기술특징 사이는 서로 조합되어 새로운 또는 바람직한 기술적 해결수단을 구성할 수 있음을 이해해야 한다. 편폭의 제한으로, 여기서 더 이상 일일이 반복하지 않는다.

도면의 간단한 설명

[0106] 도 1. HPK1의 과발현은 SeV 바이러스에 의해 유도된 IFN- β 신호 전달 경로를 현저히 억제할 수 있다.

도 2. 상이한 용량의 HPK1의 과발현은 용량 의존적으로 SeV에 의해 유도되는 IFN- β 발현을 억제할 수 있다.

도 3. 상이한 용량의 HPK1의 과발현은 용량 의존적으로 SeV에 의해 유도되는 ISRE 발현을 억제할 수 있다.

도 4. HPK1 소분자 억제제는 HPK1에 의해 억제된 IFN- β 발현을 회복한다.

도 5. 화합물 C2는 용량 의존적으로 HPK1에 의해 억제된 IFN- β 발현을 회복한다.

도 6. HPK1 억제제는 MHV 감염 C57 마우스 모델 간 조직의 바이러스 발현량을 현저히 감소시킨다.

도 7. 상이한 용량의 C1 화합물(1일 2회)을 경구 투여하고, MHV 감염 C57 마우스 간의 바이러스 함량에 대해 용량 의존적 억제 효과를 갖는다.

도 8. 상이한 용량의 C1 화합물(1일 2회)을 경구 투여하고, MHV 감염 C57 마우스 혈청의 알라닌 아미노트랜스퍼라제(ALT)에 대해 용량 의존적 억제 효과를 갖는다.

도 9는 화합물 DD02001H의 합성 경로를 나타낸다.

도 10은 화합물 DD02013H의 합성 경로를 나타낸다.

도 11은 화합물 DD02014H의 합성 경로를 나타낸다.

도 12는 화합물 DD02006H의 합성 경로를 나타낸다.

도 13은 화합물 DD02008H의 합성 경로를 나타낸다.

도 14는 화합물 DD02015H의 합성 경로를 나타낸다.

도 15는 화합물 DD02021H의 합성 경로를 나타낸다.

도 16은 화합물 DD02018H의 합성 경로를 나타낸다.

도 17은 화합물 DD02002H의 합성 경로를 나타낸다.

도 18은 화합물 DD02019H의 합성 경로를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0107] 발명자들은 광범위하고 심층적인 연구 끝에 일련의 고활성 및 고선택성 HPK1 소분자 억제제를 예기치 않게 발견하였다. 본 발명자들은 HPK1 키나아제와 바이러스 감염의 내재적 메커니즘 사이의 관계를 더 설명하고, 동시에 세포 및 동물 모델 수준에서 단일 약물 요법으로서 이러한 HPK1 소분자 억제제의 항바이러스 효과를 평가하였다. 연구 결과에 따르면, HPK1 소분자 억제제는 단일 약물 또는 조성물로서 바이러스 관련 질환 치료용 신규 광범위한 항바이러스 요법으로 사용될 것으로 기대되는 것을 나타낸다. 이를 토대로 본 발명이 완성되었다.

[0108] 용어의 정의

[0109] 본문에서 사용되는 용어는 당업자가 통상적으로 이해하고 있는 것과 동일하거나 유사하다. 명확성을 위해 본문에서 사용되는 일부 용어에 대한 정의는 다음과 같다.

[0110] 본문에서 사용되는 용어 “알킬”은 예를 들어 1 내지 12, 1 내지 6 또는 1 내지 4개의 탄소 원자를 포함하는 분지쇄 및 직쇄 포화 지방족 탄화수소기를 의미한다. 알킬의 구현에는 메틸, 에틸, 프로필(예를 들어 n-프로필

및 이소프로필), 부틸(예를 들어 n-부틸, 이소부틸, sec-부틸 및 tert-부틸) 및 펜틸(예를 들어 n-펜틸, 이소펜틸, 네오펜틸), n-헥실, 2-메틸펜틸, 2-에틸부틸, 3-메틸펜틸 및 4-메틸펜틸을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 아래 첨자 형식으로 기호 “C” 뒤에 나타나는 숫자는 특정 그룹이 포함할 수 있는 탄소 원자의 수를 나타낸다. 예를 들어, “C₁₋₆알킬”은 1~6개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 및 분지쇄 알킬을 나타낸다.

[0111] 본문에서 사용되는 용어 “알케닐”은 적어도 하나의 이중 결합을 갖는 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소기를 의미한다. 상기 알케닐은 선택적으로 하나 이상의 치환기로 치환되고, “시스” 및 “트랜스” 배향을 갖는 그룹, 또는 “E” 및 “Z” 배향을 갖는 그룹을 포함할 수 있다. 구현에는 비닐, 알릴 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0112] 본문에서 사용되는 용어 “알킬닐”은 일반적으로 적어도 하나의 삼중 결합을 갖는 분지쇄 또는 직쇄 탄화수소기를 의미한다. 알킬닐은 선택적으로 치환될 수 있다. 본 발명에서, 용어 “C2-3알킬닐”, “C2-4알킬닐”, “C2-5알킬닐”, “C2-6알킬닐”, “C2-7알킬닐” 및 “C2-8알킬닐”은 일반적으로 각각 적어도 2개, 최대 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 탄소 원자를 포함하는 알킬닐 그룹을 의미한다. 알킬닐 그룹의 비제한적 구현에는 에틸닐, 프로피닐, 부티닐, 펜티닐, 헥시닐, 헵티닐, 옥티닐, 노니닐, 데시닐 등을 포함한다.

[0113] 본문에서 사용되는 용어 “시클로알킬”은 고리형 탄화수소 분자가 하나의 수소 원자를 손실하여 얻은 그룹을 의미한다. 시클로알킬의 대표적인 구현에는 시클로프로필, 시클로펜틸 및 시클로헥실을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 단환식 시클로알킬의 구현에는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실 또는 시클로헵틸이다.

[0114] 본문에서 사용되는 용어 “헤테로원자”는 산소(O), 황(S) 또는 질소(N)를 의미한다. “할로젠화” 및 “할로젠”은 F, Cl, Br 또는 I를 의미한다. 따라서, 용어 “할로젠알킬”은 하나 이상의 할로젠으로 치환된 알킬을 의미한다.

[0115] 본문에서 사용되는 용어 “시아노”는 -CN 기를 의미한다. 용어 “아미노”는 -NH₂ 기를 의미한다.

[0116] 본문에서 사용되는 용어 “헤테로시클로알킬” 또는 “헤테로시클릴”은 1~4개의 헤테로원자(단환식인 경우), 1~6개의 헤테로원자(이환식인 경우) 또는 1~9개의 헤테로원자(삼환식인 경우)를 포함하는 시클로알킬을 의미하고, 상기 헤테로원자는 O, S 또는 N으로부터 선택된다. 헤테로시클로알킬은 선택적으로 하나 이상의 치환기로 치환될 수 있다. 일 실시형태에서, 헤테로시클로알킬의 각 고리의 0개, 1개, 2개, 3개 또는 4개의 원자는 치환기로 치환될 수 있다. 대표적인 헤테로시클로알킬기는 피페리딘, 피페라지닐, 테트라히드로피라닐, 모르폴리닐, 티오모르폴리닐, 1,3-디옥솔릴, 테트라히드로푸란(THF), 테트라히드로티에닐, 티에닐, 등등을 포함한다.

[0117] 본문에서 사용되는 용어 “방향족 고리” 또는 “아릴”은 탄화수소의 단환식, 이환식 또는 삼환식 방향족 고리 시스템이 하나의 수소 원자를 손실하여 얻은 그룹을 의미한다. 아릴은 선택적으로 하나 이상의 치환기로 치환될 수 있다. 일 실시형태에서, 아릴 각 고리의 0개, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 원자는 치환기로 치환될 수 있다. 아릴기의 구현에는 페닐, 나프틸, 안트라세닐, 플루오레닐, 인데닐, 아줄레닐, 등등을 포함한다.

[0118] 본문에서 사용되는 용어 “방향족 헤테로시클릴” 또는 “헤테로아릴”은 적어도 하나의 고리에서 적어도 하나의 헤테로원자(O, S 또는 N)를 갖는 “방향족 고리” 또는 “아릴”을 의미하고, 상기 헤테로원자를 포함하는 고리는 바람직하게는 독립적으로 O, S 또는 N으로부터 선택되는 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 포함한다. 헤테로원자를 포함하는 헤테로아릴기에서 각 고리는 1 또는 2개의 산소 또는 황 원자 및/또는 1~4개의 질소 원자를 포함할 수 있지만, 각 고리에서 총 헤테로원자 수는 4개 미만이고 각 고리는 적어도 하나의 탄소 원자를 갖는 것을 조건으로 한다. 헤테로아릴은 임의의 고리의 임의의 이용 가능한 질소 또는 탄소 원자에 연결될 수 있다. 헤테로아릴 고리 시스템은 비치환될 수 있거나 하나 이상의 치환기를 포함할 수 있다. 헤테로아릴기의 비제한적 구현에는 피리딜, 푸라닐, 티에닐, 피롤릴, 옥사졸릴, 옥사디아졸릴, 이미다졸릴, 티아졸릴, 이속사졸릴, 퀴놀린, 피리다졸릴, 이소티아졸릴, 피리다지닐, 피리미디닐, 피라지닐, 트리아지닐, 이소퀴놀린, 인다졸릴 등을 포함한다.

[0119] 본문에서 사용되는 용어 “알콕시”는 -O-알킬을 의미한다. 알콕시는 선택적으로 하나 이상의 치환기로 치환될 수 있다.

[0120] 본문에서, “(CO)” 및 “C(O)”는 카르보닐 부분을 나타낸다. 적합한 카르보닐 부분의 구현에는 케톤 및 알데히드 부분을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0121] 본문에서 사용되는 용어 “알킬아미노”는 1개 또는 2개의 알킬로 치환된 아미노를 의미한다. 용어 “아미노알

킬”은 하나 이상의 아미노로 치환된 알킬을 의미한다. 용어 “히드록시알킬”은 하나 이상의 히드록실로 치환된 알킬을 의미한다. 상기 알킬 부분은 선택적으로 하나 이상의 치환기를 갖는다.

[0122] 본문에서 사용되는 용어 “스피로시클릴”은 2개의 탄소 고리가 하나의 탄소 원자를 공유하는 다환식 그룹을 나타낸다. “헤테로스피로시클릴”은 2개의 단일 고리가 하나의 탄소 원자를 공유하는 다환식 그룹을 의미하되, 2개의 고리는 하나 이상의 헤테로원자를 포함할 수 있다.

[0123] 본문에서 사용되는 용어 “브리지 시클릴”은 임의의 2개의 탄소 고리가 2개의 직접 연결되지 않은 탄소 원자를 공유하는 시클릴을 의미하고, 구성고리의 수에 따라 이환식, 삼환식, 사환식 등으로 나눌 수 있다. “헤테로브리지 시클릴”은 다환식 헤테로시클릴을 의미하고, 상기 다환식 헤테로시클릴에서 2개의 고리가 2개의 인접하지 않은 탄소 원자 또는 헤테로원자를 공유한다.

[0124] 본문에서 사용되는 용어 “축합 시클릴”은 2개 이상의 탄소 고리에 의해 고리 가장자리를 공유하여 형성된 다환식 유기 화합물을 나타낸다. “헤테로 축합 시클릴”은 다환식 헤테로시클릴을 의미하고, 상기 다환식 헤테로시클릴에서 2개의 고리가 2개의 인접한 탄소 원자 또는 헤테로원자를 공유한다.

[0125] 본문에서 사용되는 용어 “이성질체” 또는 “입체 이성질체”는 동일한 화학적 조성을 갖지만 공간에서 원자 또는 그룹의 배열이 다른 화합물을 의미한다.

[0126] 용어 “호변 이성질체” 또는 “호변이성질체 형태”는 낮은 에너지 장벽을 통해 상호전환 가능한 다른 에너지를 갖는 구조 이성질체를 의미한다. 예를 들어, 양성자 호변 이성질체(양성자 상호전환되는 이성질체라고도 함)는 케토-엔올 및 이민-에나민 이성질체화와 같은 양성자 이동에 의한 상호전환을 포함한다. 원자가 호변 이성질체는 일부 결합 전자의 재구성을 통한 상호전환을 포함한다.

[0127] 용어 “부분 입체 이성질체”는 2개의 이상의 비대칭 중심을 갖고 그 분자가 서로 거울상이 아닌 입체 이성질체를 의미한다. 용어 “거울상 이성질체”는 서로 겹칠 수 없는 거울상인 화합물의 두 가지 입체 이성질체를 의미한다. 두 가지 거울상 이성질체의 등물 혼합물을 “라세미 혼합물” 또는 “라세미체”라고 한다.

[0128] 본문에서 사용되는 용어 “예방 및/또는 치료”는 질환의 예방 및/또는 치료를 포함할 뿐만 아니라 일반적으로 질환의 발작을 예방, 질환의 진행을 완화 또는 역전, 질환과 관련된 하나 이상의 증상의 발작을 예방 또는 완화, 질환과 관련된 하나 이상의 증상을 감소 및/또는 완화, 질환 및/또는 이와 관련된 임의의 증상의 중증도 및/또는 지속 시간을 감소 및/또는 질환 및/또는 이와 관련된 임의의 증상의 중증도가 더욱 증가하는 것을 예방, 질환으로 인한 임의의 생리적 손상을 예방, 감소 또는 역전, 및 치료받는 환자에서 일반적으로 유익한 임의의 약리학적 작용을 더 포함한다. 본 발명의 화합물 또는 조성물에 의해 형성된 실행 가능한 치료제는 질환의 임의의 증상 또는 발현의 완전한 치료 또는 근절을 구현할 필요는 없다. 관련 분야에서 인식된 바와 같이, 치료제로 사용되는 약물은 주어진 질환 상태의 중증도를 감소시킬 수 있지만 질환의 모든 발현을 제거할 필요는 없는 것이야말로 유용한 치료제로 간주될 수 있다. 유사하게, 예방적으로 투여된 치료로 구성된 실행 가능한 예방제는 병증의 발작을 예방하는 데 완전히 효과적일 필요는 없다. 단순히 대상체에서 질환의 영향을 줄이거나(예를 들어, 증상의 수나 중증도를 줄이거나, 또 다른 치료의 유효성을 향상시키거나, 또 다른 유익한 효과를 생성함으로써), 질환의 발생 또는 악화될 가능성을 줄이는 것만으로도 충분하다. 본문에서 사용되는 용어 “예방 및/또는 치료”는 대상체의 면역력을 향상시켜 질환의 예방 및/또는 치료를 구현하는 것과 같이 다양한 방식에 의해 구현되는 질환의 예방 및/또는 치료를 포함한다.

[0129] 본문에서 사용되는 용어 “약물 투여” 또는 “투여”는 이의 예기된 기능을 구현하기 위해 상기 화합물이 대상체에 도입되는 경로를 포함한다. 사용될 수 있는 투여 경로의 구현에는 주사(피하, 정맥내, 비경구, 복막내, 척수강내), 국소, 경구, 흡입, 직장 및 경피를 포함한다.

[0130] 본문에서 사용되는 용어 “유효량”은 필수 용량 및 기간(Time Period) 내에 원하는 결과를 효과적으로 구현하는 양을 포함한다. 유효량의 화합물은 예를 들어 대상체의 질환 상태, 연령 및 체중과 같은 요인 및 상기 대상체에서 원하는 반응을 이끌어내는 상기 화합물의 능력에 따라 달라질 수 있다. 최적의 치료 반응을 제공하기 위해 용량 요법을 조절할 수 있다. “치료적 유효량”은 (i) 특정 질환, 병세 또는 병증의 치료 또는 예방, (ii) 특정 질환, 병세 또는 병증의 하나 이상의 증상의 약화, 개선 또는 제거, 또는 (iii) 본 발명에 따른 특정 질환, 병세 또는 병증의 하나 이상의 증상의 발작을 예방 또는 지연시키는 본 발명의 화합물의 양을 의미한다.

[0131] 본문에서 사용되는 용어 “대상체” 또는 “환자”는 포유동물과 같은 동물을 의미하고, 영장류 동물(예를 들어 인간), 소, 양, 염소, 말, 개, 고양이, 토끼, 래트, 마우스 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 일부 실시

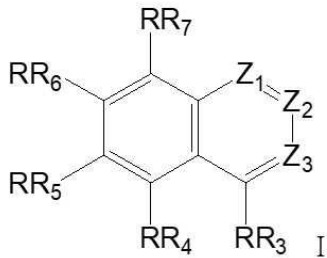
형태에서, 상기 대상체는 인간이다.

[0132] 본문에서 사용되는 용어 “억제”는 상기 억제제가 없는 경우의 상기 효소의 활성과 비교하여 상기 타겟 효소의 활성을 감소시키는 것을 의미한다. 일부 실시형태에서, 용어 “억제”는 HPK1 활성을 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90% 또는 적어도 약 95% 감소; 또는 HPK1 활성을 약 5% 내지 약 25%, 약 25% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 75% 또는 약 75% 내지 100% 감소; 또는 HPK1 활성을 약 95% 내지 100%, 예를 들어 활성을 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 감소시키는 것을 의미한다.

[0133] **본 발명의 화합물**

[0134] 본 발명은 일련의 HPK1 활성 억제제를 갖는 화합물을 제공한다. 본 발명의 화합물은 대상체 체내의 인터페론 발현 또는 생성을 향상시키거나 회복시켜 대상체의 면역력을 강화시킴으로써, 질환을 치료 및/또는 예방할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 HPK1 활성 억제 화합물은 IFN-β에 의해 매개되는 항바이러스 작용을 강화하고/하거나 IFN-γ에 의해 매개되는 T 세포 활성화를 강화시켜 바이러스 감염을 치료 및/또는 예방할 수 있다. 또한, 본 발명의 HPK1 활성 억제 화합물은 또한 대상체의 면역력을 향상시키는 데 사용될 수 있다.

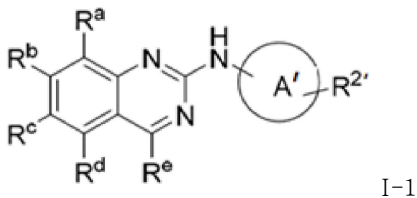
[0135] 구체적인 실시형태에서, 본 발명은 식 I로 표시되는 화합물을 제공하고,



[0136] 상기 식 I에서 각 치환기는 각각 앞서 설명한 바와 같다.

[0137]

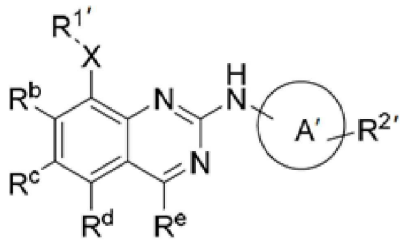
[0138] 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 화합물은 하기 식 I-1로 표시되는 화합물이고,



[0139] 상기 식 I-1의 각 치환기는 각각 앞서 설명한 바와 같다.

[0140]

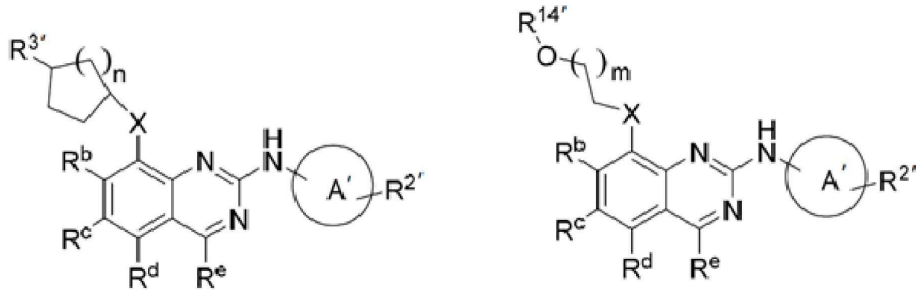
[0141] 보다 바람직한 실시형태에서, 식 I-1로 표시되는 화합물은 식 I-1-1로 표시되는 화합물일 수 있고,



[0142] 상기 식 I-1-1의 각 치환기는 각각 앞서 설명한 바와 같다.

[0143]

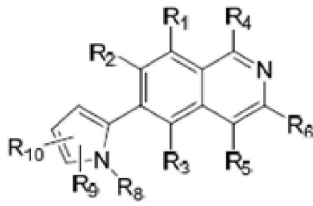
[0144] 더 바람직한 실시형태에서, 식 I-1-1로 표시되는 화합물은 식 I-1-1-1 또는 I-1-1-2로 표시되는 화합물일 수 있고,



I-1-1-1 I-1-1-2

상기 식 I-1-1-1 또는 I-1-1-2의 각 치환기는 각각 앞서 설명한 바와 같다.

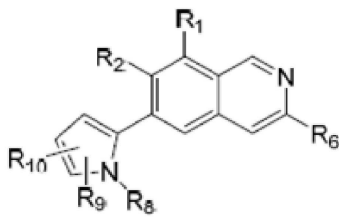
다른 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 화합물은 식 I-2로 표시되는 화합물이고,



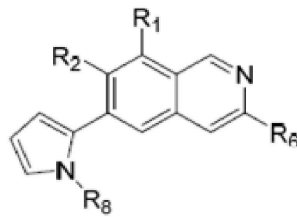
I-2

상기 식 I-2의 각 치환기는 각각 앞서 설명한 바와 같다.

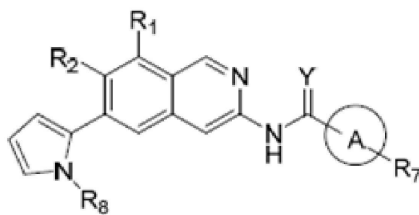
보다 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 화합물은 식 I-2-1, 식 I-2-2 또는 식 I-2-3으로 표시되는 화합물이고,



I-2-1



I-2-2



I-2-3

상기 식 I-2-1, 식 I-2-2 또는 식 I-2-3의 각 치환기는 각각 앞서 설명한 바와 같다.

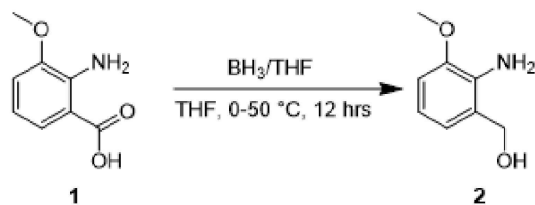
본 발명의 화합물은 예를 들어, 본 발명의 화합물에 의해 형성된 유기염 또는 무기염과 같은 약학적으로 허용 가능한 염을 형성할 수 있다. 예시적인 염은 황산염, 구연산염, 아세트산염, 옥살산염, 염화물, 브롬화물, 요오드화물, 질산염, 황산수소염, 인산염, 산성인산염, 이소니코티네이트, 젯산염, 살리실산염, 산성구연산염, 타르타르산염, 올레산염, 탄네이트, 판토텐산염, 중탄산염, 아스코르브산염, 숙신산염, 말레산염, 젠티산염, 푸마르산염, 글루콘산염, 글루쿠로네이트, 당산염, 포름산염, 벤조산염, 글루타메이트, 메탄술폰산염, 에탄술폰산염, 벤젠술폰산염, p-톨루엔술폰산염, 파모에이트(즉 1,1'-메틸렌-비스-(2-히드록시-3-나프토산)염), 알칼리 금속(예를 들어 나트륨 및 칼륨)염, 알칼리 토금속(예를 들어 마그네슘)염 및 암모늄 염을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 약학적으로 허용 가능한 염은 예를 들어 아세테이트 이온, 숙신산염 이온 또는 다른 반대 이온과 같은 또 다른 분자를 포함하는 것에 관한 것일 수 있다. 상기 반대 이온은 상기 모화합물 상의 전하를 안정화시키는 임의의 유기 또는 무기 부분일 수 있다. 이 밖에, 약학적으로 허용 가능한 염은 이의 구조에 하나 이상의 하전된 원자를 가질 수 있다. 다수의 하전된 원자가 약학적으로 허용 가능한 염의 일부인 구현예에서, 상기 염은 다수의 반대 이온을 가질 수 있다. 따라서, 약학적으로 허용 가능한 염은 하나 이상의 하전된 원자 및/또는 하나 이상의 반대 이온을 가질 수 있다.

- [0156] 본 발명의 화합물은 또는 용매화물(예를 들어, 수화물)을 형성할 수 있다. 용어 “용매화물”은 화합물의 하나 이상의 용매 분자(유기 또는 무기와 관계없음)와의 물리적 연관성을 의미한다. 이러한 물리적 연관성은 수소 결합을 포함한다. 일부 경우에, 예를 들어, 하나 이상의 용매 분자가 결정 고체의 결정 격자에 통합되는 경우와 같이 용매화물은 분리될 수 있다. 예시적인 용매화물은 수화물, 에탈올화물, 메탈올화물, 이소프로판올화물, 아세토니트릴 용매화물 및 에틸아세테이트 용매화물을 포함한다. 용매화 방법은 본 분야에서 공지되어 있다.
- [0157] 본 발명의 화합물은 체내에서 대사될 수 있다. 따라서, “대사산물”, 즉 체내에서 특정 화합물 또는 이의 염이 대사되어 생성된 생성물도 본 발명의 보호 범위 내에 포함되어야 한다.
- [0158] 본 발명의 화합물은 또한 “프로드러그” 또는 “전구약물”, 즉 약물 전구체의 화합물로 만들어질 수 있으며, 이를 대상체에 투여할 경우, 대사 또는 화학적 과정을 통해 화학적 전환을 거쳐 식 I의 화합물 또는 이의 염을 얻는다. 프로드러그에 관한 내용은 본 분야에 잘 알려져 있다(예를 들어 Berge et al. (1977) “Pharmaceutical Salts”, J. Pharm. Sci. 66: 1-19 참조바람).
- [0159] 본 발명의 화합물은 또한 에스테르를 형성할 수 있으므로 에스테르도 본 발명의 범위 내에 포함된다. 구체적인 에스테르의 대표적인 예는 포르메이트, 아세테이트, 프로피오네이트, 부티레이트, 아크릴레이트 및 디에틸숙시네이트를 포함하지만 이에 한정되지 않는다.
- [0160] 본 발명의 화합물은 본 발명의 화합물에 나타난 원자의 모든 동위원소를 포함함을 의미한다. 예를 들어, 수소의 동위원소는 중수소(D)와 삼중수소(T)를 포함한다. 탄소의 동위원소는 ¹³C 및 ¹⁴C를 포함한다. 동위원소 표지된 본 발명의 화합물은 일반적으로 당업자에게 공지된 통상적인 기술 또는 다른 경우에 사용되는 표지되지 않은 시약 대신에 본 발명에 따른 방법과 유사하게 적절한 동위원소 표지된 시약을 사용하여 제조될 수 있다.
- [0161] 용어 “유도체”는 모화합물 분자의 원자 또는 원자단이 다른 원자 또는 원자단으로 치환되어 형성된 화합물을 의미한다.
- [0162] **인터페론 관련 질환**
- [0163] 본문에 따른 인터페론 관련 질환은 본 발명의 화합물을 투여하여 대상체 체내의 인터페론 발현 또는 생성을 향상 또는 회복시켜 치료 및/또는 예방할 수 있는 질환을 의미한다. 구체적인 실시형태에서, 상기 인터페론은 IFN-β 및/또는 IFN-γ 이므로, 본 발명의 화합물은 IFN-β 및/또는 IFN-γ 신호 전달 경로의 강화제로 사용될 수 있으나, 본문에 따른 “인터페론 관련 질환”은 IFN-β/IFN-γ에 의해 치료 및/또는 예방 작용이 있는 모든 바이러스 감염을 포함한다.
- [0164] 구체적인 실시형태에서, 상기 인터페론 관련 질환은 바이러스 감염이며 B형 간염 바이러스(Hepatitis B virus), 홍역 바이러스(Measles Virus), 신드비스 바이러스(Sindbis Virus), 웨스트 나일 바이러스(West Nile Virus), 뎅기 바이러스(Dengue Virus), 포진 바이러스(Herpes Simplex Virus), 인간 거대세포 바이러스(Human Cytomegalovirus HCMV), 에볼라 바이러스(Ebola Virus), C형 간염 바이러스(HCV), 인플루엔자 바이러스(Influenza A Virus), 중증급성호흡기증후군 바이러스(SARS-CoV), 지카 바이러스(Zika Virus), 에이즈 바이러스(HIV), 고양이 전염성 복막염 바이러스(Feline Infectious Peritonitis Virus), 마우스 간염 바이러스(Mouse Hepatitis Virus), 개 코로나바이러스(Canine Coronavirus), 고양이 칼리시바이러스(Feline Calicivirus), 고양이 백혈병 바이러스(Feline Leukemia Virus), 고양이 에이즈 바이러스(Feline Immunodeficiency Virus), 고양이 범백혈구감소증 바이러스(Feline Panleukopenia Virus), 닭 전염성 기관지염 바이러스(Avian Infectious Bronchitis Virus), 돼지 전염성 위장염 바이러스(Transmissible Gastroenteritis Virus), 돼지 유행성 설사 바이러스(Porcine Epidemic Diarrhea Virus), 돼지 혈구응집성 뇌척수염 바이러스(Porcine Hemagglutinating Encephalomyelitis Virus), 소 코로나바이러스(Bovine Coronavirus) 등을 포함하지만 이에 한정되지 않고; 바람직하게는 고양이 전염성 복막염 바이러스(Feline Infectious Peritonitis Virus), 마우스 간염 바이러스(Mouse Hepatitis Virus), 포진 바이러스, 중증급성호흡기증후군 바이러스, 지카 바이러스, 고양이 전염성 복막염 바이러스, 개 코로나바이러스, 고양이 칼리시바이러스, 닭 전염성 기관지염 바이러스, 돼지 유행성 설사 바이러스이다.
- [0165] **약학적 조성물**
- [0166] 본 발명의 화합물은 인터페론 관련 질환을 치료할 수 있다는 것에 비추어 보아, 본 발명의 화합물을 약학적 조성물로 제조할 수 있다. 상기 약학적 조성물에서, 본 발명의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 입체 이성질체, 호변 이성질체, 프로드러그, 대사산물 또는 유도체 및 선택적인 약학적으로 허용 가능

한 부형제를 포함한다.

- [0167] 용어 “약학적으로 허용 가능한”은 설명된 화합물, 물질, 조성물 및/또는 제형이 합리적인 의학적 판단의 범위 내에서 인간 및 동물의 조직과 접촉하여도 과도한 독성, 자극성, 알레르기 반응을 유발하지 않거나 다른 문제 또는 합병증에 적용됨으로써, 합리적인 이점/위험 비율에 비례하는 것을 의미한다.
- [0168] 용어 “부형제” 또는 “담체”는 사용된 용량 및 농도에서 세포 또는 포유동물에 독성이 없는 담체, 부형제 또는 안정제를 의미한다. 이의 비제한적 구현에는 인산염, 구연산염 및 다른 유기산과 같은 완충제; 아스코르브산을 포함하는 항산화제; 저분자량(약 10개 잔기 미만) 폴리펩티드; 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린과 같은 단백질; 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 폴리머; 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 라이신과 같은 아미노산; 당당류, 이당류 및 다른 탄수화물(포도당, 만노스 또는 텍스트린 포함); EDTA와 같은 킬레이트제; 만니톨 또는 소르비톨과 같은 당알코올; 나트륨과 같은 염 형성 반대 이온; 및/또는 TWEENTM, 폴리에틸렌글리콜(PEG) 및 PLURONICSTM과 같은 비이온성 계면활성제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 약학적으로 허용 가능한 담체는 비천연적으로 존재하는 약학적으로 허용 가능한 담체이다.
- [0169] 본 발명의 화합물은 인터페론 관련 질환, 특히 바이러스 감염을 치료할 수 있다. 따라서, 본 발명의 화합물 외에, 본 발명의 약학적 조성물은 하나 이상의 다른 항바이러스 약물을 더 포함함으로써, 상기 약학적 조성물의 효능을 강화할 수 있다.
- [0170] **본 발명의 장점:**
- [0171] 1. 본 발명은 신규 고활성 및 고선택성 HPK1 소분자 억제제를 제공하고;
- [0172] 2. 본 발명은 최초로 HPK1 키나아제와 바이러스 감염의 내재적 메커니즘 사이의 관계를 명확히 하며;
- [0173] 3. 본 발명의 HPK1 소분자 억제제는 단일 약물 요법으로서 세포 및 동물 모델 수준에서 항바이러스 효과를 나타내어 인터페론 관련 질환, 특히 바이러스 감염약물의 개발을 위한 완전히 새로운 물질적 기반을 마련할 수 있고;
- [0174] 4. 본 발명의 HPK1 소분자 억제제는 면역력을 향상시키는 보조/병용 약물로서 세포 및 동물 모델 수준에서 항바이러스 효과를 나타내어 인터페론 관련 질환, 특히 바이러스 감염약물의 개발을 위한 완전히 새로운 물질적 기반을 마련할 수 있다.
- [0175] 이하에서는 구체적인 실시 사례를 결부하여 본 발명의 기술적 해결수단을 더욱 설명하지만, 이하의 실시 사례는 본 발명에 대한 한정을 구성하지 않으며, 본 발명의 원리 및 기술수단에 따라 사용된 다양한 투여 방법은 모두 본 발명의 범위에 속한다. 하기 실시예에서 구체적인 조건을 명시하지 않은 실험 방법은 통상적으로 일반적인 조건을 따르거나 제조업체에서 권장하는 조건을 따른다. 달리 설명되지 않는 한, 백분율과 분량은 중량에 따라 계산한다.
- [0176] **실시예**
- [0177] **실시예 1. 본 발명의 화합물의 합성**
- [0178] **1. 식 I-1의 일련의 화합물의 합성 및 HPK1 활성 억제의 검출**
- [0179] 1.1 화합물 DD02001H: 8-(((1s,4s)-4-아미노시클로헥실)옥소)-N-(1-(1-메틸피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-일)퀴나졸린-2-아민의 합성
- [0180] 화합물 DD02001H의 합성 경로는 도 9에 도시된 바와 같다.
- [0181] 1.1.1 화합물 2의 합성
- [0182] N₂ 보호, 0℃에서, THF(300 mL)에 용해된 화합물 1(25.0 g, 150 mmol, 1.00 eq)의 용액에 BH₃/THF(1.00 M, 329 mL, 2.20 eq)를 한방울씩 첨가하였다. 적가가 완료된 후 혼합물을 0℃에서 30분 동안 교반한 다음 혼합물을 50℃로 가열하고 12시간 동안 교반하였다. TLC(석유에테르:에틸아세테이트=1:1, 원료 R_f=0.1, 제품 R_f=0.3)에 따르면 새로운 반점이 형성되고, 원료가 완전히 사라지며, 반응이 완료된 것으로 나타난 직후 혼합물을 0℃로 냉각시키고, MeOH(400 mL)를 기포가 형성되지 않을 때까지 한방울씩 첨가한 다음 40.0 mL의 H₂O를 첨가하여 에틸아세테이트(300 mL*2)로 추출하며, 유기층을 염수(100 mL*2)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조시킨 후 여과한 다

음 감압 농축하여 화합물 2(45.0 g, 294 mmol, 98.2%의 수율)를 얻으며, 상기 물질은 담황색 오일상 물질이고, ^1H NMR로 구조를 입증하였다.



^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 6.65-6.85 (m, 3H), 4.63 (s, 2H), 3.86 (s, 3H).

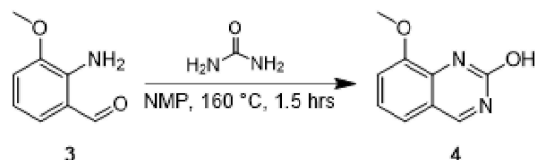
1.1.2 화합물 3의 합성



디클로로메탄(DCM)(500 mL)에 용해된 화합물 2(45.0 g, 294 mmol, 1.00당량)의 용액에 MnO_2 (128 g, 1.47 mol, 5.00당량)를 첨가하여 얻은 혼합물을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 박층 크로마토그래피(석유에테르:에틸아세테이트=1:1, 물질 R_f =0.45, 제품 R_f =0.8)에 따르면 새로운 반점이 형성되고, 원료 반점이 사라진 것으로 나타나고, 반응이 완료된 후 혼합물을 규조토를 통해 여과하고, 여액을 감압 농축하였다. 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유에테르/에틸아세테이트=30/1 내지 5/1)로 분리 정제하여 화합물 3(25.0 g, 166 mmol, 56.3%의 수율)을 얻고, ^1H NMR로 구조를 입증하였다.

^1H NMR(400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.85 (s, 1H), 7.18 (dd, J =8.0, 1.2 Hz, 1H), 7.02 (dd, J =8.0, 0.8 Hz, 1H), 6.80 (br s, 2H), 6.64 (t, J =8.0 Hz, 1H), 3.77-3.87 (m, 3H).

1.1.3 화합물 4의 합성



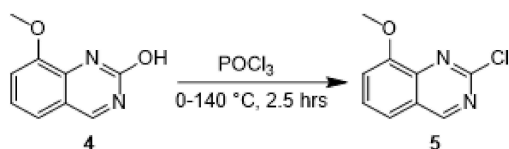
화합물 3(23.0 g, 152 mmol, 1.00 eq), 우레아(101 g, 1.67 mol, 89.7 mL, 11.0 eq) 및 NH_4OAc (586 mg, 7.61 mmol, 0.05 eq)의 혼합물을 160°C에서 0.5시간 동안 교반하고, 혼합물이 뜨거운 용액에서 석출되어 침전되기 시작하였다. NMP(100 mL)를 첨가하여 고체 침전을 용해시킨 후, 반응을 160°C에서 1시간 동안 교반하였다. LC-MS에 따르면 MS(RT =0.247분) 표적 생성물 4가 검출되고, 원료가 사라진것으로 나타나며, 반응이 완료된 후 혼합물을 25°C로 냉각시키고 100 mL의 H_2O 에 부은 후 25°C에서 10분 동안 교반하며, 감압 하에 여과하였다. 조생성물을 석유에테르(60.0 mL)로 25°C에서 5분 동안 진탕하면서 분산시킨 후 감압 하에서 여과하여 회색 고체의 화합물 4(20.0 g, 114 mmol, 74.6%의 수율)를 얻었다. ^1H NMR로 구조를 입증하였다.

LCMS: 생성물 RT =0.247 min, m/z =177.2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

^1H NMR(400 MHz, DMSO) δ 8.36 (s, 1H), 6.90 (br d, J =4.0 Hz, 1H), 6.87 (d, J =8.0 Hz, 1H), 6.79 (dd, J =8.0, 4.0 Hz, 1H), 5.98 (dd, J =8.0, 4.0 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H).

1.1.4 화합물 5의 합성

[0195] 화합물 4(19.0 g, 108 mmol, 1.00 eq)를 0℃에서 POCl₃(248 g, 1.61 mol, 150 mL, 15.0 eq)에 첨가하고, 얻은 혼합물을 25℃에서 0.5시간 동안 교반한 다음 140℃로 온도를 올려 2시간 동안 교반하였다. LC-MS에 따르면 표적 생성물 MS(RT=0.655분)가 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 혼합물을 0~10℃의 얼음물(200 mL)에 천천히 붓고 교반한 다음 에틸아세테이트(300 mL*4)로 추출하며, 염수(100 mL*2)로 유기층을 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조시킨 후 여과하고 감압 농축하였다. 25℃에서 석유에테르(60.0 mL)로 5분 동안 진탕하면서 분산시킨 후 여과하여 노란색 고체의 화합물 5(7.60 g, 39.1 mmol, 36.2%의 수율)를 얻고, ¹H NMR로 구조를 확인하였다.

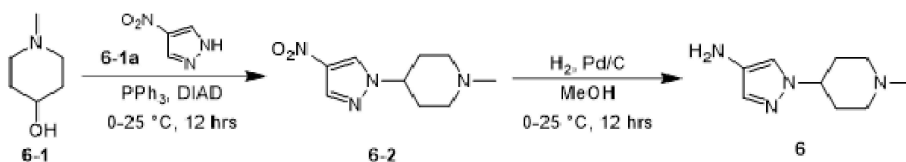


[0196]

[0197] LCMS: 생성물 RT=0.655 min, m/z =195.0 (M+H)⁺

[0198] ¹H NMR(400 MHz, DMSO) δ 9.56 (s, 1H), 7.69 - 7.79 (m, 2H), 7.54 (br d, *J* =4.0 Hz, 1H), 3.99 (s, 3H).

[0199] 1.1.5 화합물 6의 합성



[0200]

[0201] 0℃에서 THF(300 mL)에 용해된 화합물 6-1(10.0 g, 86.8 mmol, 10.1 mL, 1.00 eq), 화합물 6-1a(11.7 g, 104 mmol, 1.20 eq) 및 트리페닐포스포란(34.2 g, 130 mmol, 1.50 eq)의 용액에 DIAD(26.3 g, 130 mmol, 25.3 mL, 1.50 eq)를 첨가하고, 얻은 혼합물을 25℃에서, N₂ 보호 하에 12시간 동안 교반하였다. LCMS에 따르면 원료 반응이 완료되고, 생성물이 형성된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 1M의 HCl로 반응 혼합물을 pH=4로 조절하고, 에틸아세테이트(300 mL)로 추출하며, NaHCO₃(포화)로 수상을 pH=8로 조절하고, 에틸아세테이트(100 mL*2)로 다시 추출하였다. 포화 염수(100 mL)로 유기층을 세척하고, 유기층을 무수 황산나트륨을 사용하여 건조시킨 후 여과하고 감압 농축하여 화합물 6-2(8.00 g, 38.1 mmol, 43.8%의 수율)를 얻으며, 상기 화합물은 노란색 오일상 물질이고, ¹H NMR로 구조를 입증하였다.

[0202] LCMS 생성물 RT=0.150 min, m/z =211.1 (M+H)⁺

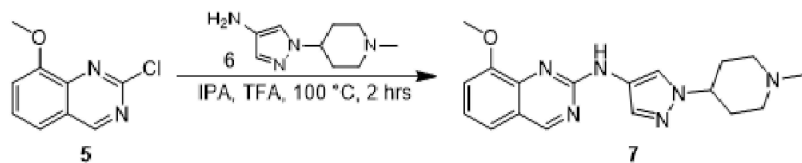
[0203] ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 8.15 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 4.08 - 4.14 (m, 1H), 2.95 - 2.98 (m, 2H), 2.31 (s, 3H), 2.09 - 2.15 (m, 6H).

[0204] 화합물 6-2(8.00 g, 38.1 mmol, 1.00당량), Pd/C(2.00 g, 10%의 순도)을 메탄올(50.0 mL)에서 교반하고, 혼합물을 25℃에서 H₂(15 psi)에서 12시간 동안 교반하였다. LCMS에 따르면 화합물 6-2가 완전히 소모된 것으로 나타나고, 반응이 완료된 후 혼합물을 여과하고 감압 농축하여 노란색 오일상 화합물 6(5.00 g, 27.7 mmol, 72.9%의 수율)을 얻으며, ¹H NMR로 구조를 입증하였다.

[0205] LCMS: 생성물RT=0.10 min, m/z =181.1 (M+H)⁺

[0206] ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 7.09 (s, 1H), 7.01 (s, 1H), 3.92 - 3.98 (m, 1H), 2.88 - 2.91 (m, 4H), 2.26(s, 3H), 1.85 - 2.26(m, 6H).

[0207] 1.1.6 화합물 7의 합성



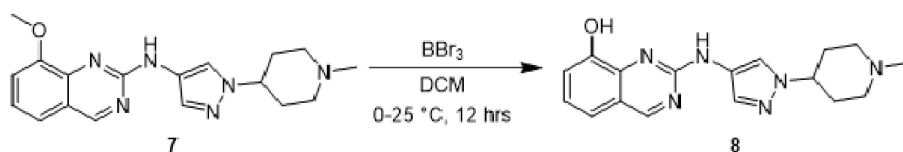
[0208]

[0209] IPA(10.0 mL)에 용해된 화합물 5(400 mg, 2.06 mmol, 1.00 eq) 및 화합물 6(444 mg, 2.47 mmol, 1.20 eq)의 용액에 TFA(23.4 mg, 205 μ mol, 15.2 μ L, 0.10 eq)를 첨가하고, 얻은 혼합물을 100°C에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS에 따르면 표적 생성물의 질량(RT=0.653분)이 검출된 것으로 나타났다. 에틸아세테이트(100 mL)로 혼합물을 희석하고 포화 NaHCO₃ 용액(50.0 mL)으로 세척한 다음 염수(50.0 mL)로 유기상을 세척하며, 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 농축하여 고체 물질을 얻고, 석유에테르(25.0 mL)로 진탕하면서 분산시켜 노란색 고체의 화합물 7(570 mg, 1.68 mmol, 81.9%의 수율)을 얻으며, LCMS 및 ¹H NMR로 구조를 확인하였다.

[0210] LCMS: 생성물 RT=0.673 min, m/z =339.3 (M+H)⁺

[0211] ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 9.05 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.31 - 7.35 (m, 2H), 7.21 - 7.25 (m, 1H), 7.10 - 7.12 (m, 1H), 4.12 - 4.14 (m, 1H), 4.05 (s, 3H), 2.98 - 3.01 (m, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.14 - 2.23(m, 6H).

[0212] 1.1.7 화합물 8의 합성

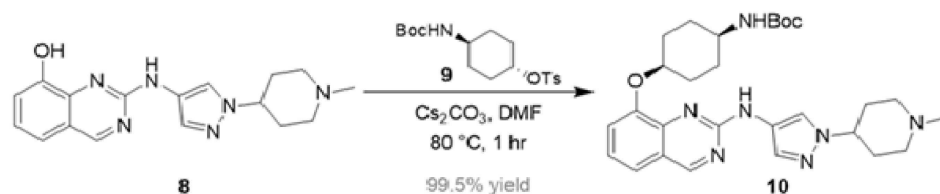


[0213]

[0214] DCM(15.0 mL)에 용해된 화합물 7(570 mg, 1.68 mmol, 1.00 eq)의 용액에 BBr₃(1.05 g, 4.21 mmol, 405.7 μ L, 2.50 eq)을 한방울씩 첨가하였다. 25°C에서 혼합물을 12시간 동안 교반하였다. LCMS(EW20001-101-P1A1)에 따르면 표적 생성물(RT=0.622분)이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, DCM(100 mL)으로 혼합물을 희석하고, 포화 NaHCO₃ 용액(50.0 mL)으로 세척하며, 염수(50.0 mL)로 유기상을 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 농축하여 노란색 고체의 화합물 8(500 mg, 조생성물)을 얻으며, 다음 단계에 직접 사용하였다.

[0215] LCMS: 생성물 RT=0.847 min, m/z =325.2 (M+H)⁺

[0216] 1.1.8 화합물 10의 합성

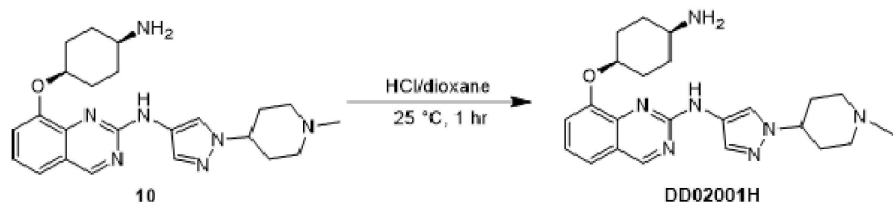


[0217]

[0218] DMF(3.00 mL)에 용해된 화합물 8(200 mg, 616 μ mol, 1.00 eq) 및 화합물 9(273 mg, 740 μ mol, 1.20 eq)의 용액에 Cs₂CO₃(502 mg, 1.54 mmol, 2.50 eq)을 첨가하고, 얻은 혼합물을 80°C에서 1시간 동안 교반하였다. LCMS에 따르면 표적 생성물(RT=0.799분)이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 물(50.0 mL)을 첨가하여 혼합물을 퀀칭하고 에틸아세테이트(50.0 mL*2)로 추출하며, 염수(50.0 mL)로 유기상을 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 농축하여 노란색 오일상 물질의 화합물 10(320 mg, 613 μ mol, 99.5%의 수율)을 얻으며, 추가 정제 없이 다음 단계에 직접 사용하였다.

[0219] LCMS 생성물 RT=0.799 min, m/z =522.3 (M+H)⁺.

[0220] 1.1.9 화합물 DD02001H의 합성



[0221]

[0222] 25℃에서 화합물 10(320 mg, 613 μmol, 1.00 eq)과 HCl/디옥산(4 M, 10.0 mL, 65.2 eq)의 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. LCMS에 따르면 표적 생성물(RT=0.651분)이 검출된 것으로 나타났다. 혼합물을 농축하여 잔류물을 얻고, 분취용 HPLC로 정제하였다. 포화 NaHCO₃ 용액으로 혼합물을 pH=8로 조절하고, DCM(50.0 mL*2)으로 추출하며, 염수(50.0 mL)로 유기상을 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 농축하여 화합물 DD02001H를 얻으며, LCMS, HPLC(EW20001-106-P1A2) 및 ¹H-NMR로 화합물의 구조를 확인하고, 이는 노란색 고체였다(27.2 mg, 91.7 μmol, 14.9%의 수율, 96.7%의 순도).

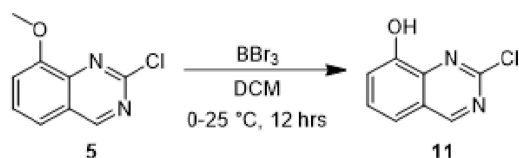
[0223] LCMS 생성물 RT=0.644 min, m/z =422.3 (M+H)⁺

[0224] ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 8.94 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.23 - 7.25 (m, 1H), 7.12 - 7.13 (m, 2H), 7.06 (s, 1H), 4.67 - 4.68 (m, 1H), 4.05 - 4.09 (m, 1H), 2.89 - 2.92 (m, 2H), 2.78 - 2.80 (m, 1H), 2.26(s, 3H), 2.05 - 2.15 (m, 8H), 1.62 - 1.74 (m, 8H).

[0225] 1.2 화합물 DD02013H: 4-((2-((4-((2-(디메틸아미노)에틸)(메틸)아미노)페닐)아미노)퀴나졸린-8-일)옥소)시클로헥산-1-올의 합성

[0226] 화합물 DD02013H의 합성 경로는 도 10에 도시된 바와 같다.

[0227] 1.2.1 화합물 11의 합성



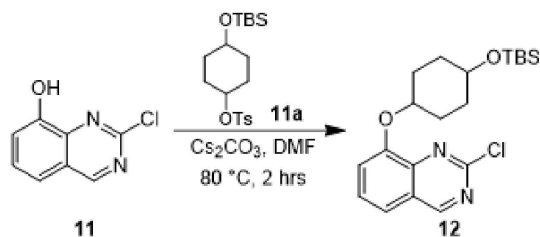
[0228]

[0229] 0℃에서, DCM(10.0 mL)에 용해된 화합물 5(500 mg, 2.57 mmol, 1.00 eq)의 용액에 DCM(5.00 mL)에 용해된 BBr₃(1.42 g, 5.65 mmol, 545 μL, 2.20 eq)의 용액을 한방울씩 첨가하였다. 적가가 완료된 후, 25℃에서 혼합물을 12시간 동안 교반하였다. LCMS에 따르면 표적 제품 분자량(RT=0.585분)이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 혼합물에 물(50.0 mL)을 첨가하여 켄칭하고 DCM(50.0 mL)으로 추출하였다. 염수(50.0 mL)로 유기상을 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 농축하여 잔류물을 얻으며, 상기 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유에테르/에틸아세테이트=20/1 내지 10/1, TLC(석유에테르:에틸아세테이트=3:1, R_f=0.3)로 정제하여 노란색 고체의 화합물 11(400 mg, 2.21 mmol, 86.2%의 수율)을 얻고, LCMS와 ¹H NMR로 구조를 확인하였다.

[0230] LCMS: 생성물RT=0.575 min, m/z =181.0 (M+H)⁺

[0231] ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 9.30 (s, 1H), 7.59-7.64 (m, 1H), 7.49-7.52 (m, 1H), 7.42-7.45 (m, 2H).

[0232] 1.2.2 화합물 12의 합성



[0233]

[0234] DMF(5.00 mL)에 용해된 화합물 11(200 mg, 1.11 mmol, 1.00 eq) 및 화합물 11a(639 mg, 1.66 mmol, 1.50 eq)의 용액에 Cs_2CO_3 (721.6 mg, 2.21 mmol, 2.00 eq)을 첨가하고, 얻은 혼합물을 80°C 에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS에 따르면 표적 생성물 분자량($\text{RT}=1.229$ 분)을 검출하였다. 반응이 완료된 후, 물(50.0 mL)을 첨가하여 반응을 퀀칭하고, 에틸아세테이트(50.0 mL*2)로 추출하며, 염수(50.0 mL)로 유기상을 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 농축하여 잔류물을 얻으며, 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유에테르/에틸아세테이트=20/1 내지 10/1, TLC(석유에테르/에틸아세테이트=5:1, $R_f=0.4$))로 정제하여 노란색 고체의 화합물 12(100 mg, 254 μmol , 22.9%의 수율)를 얻고, ^1H NMR로 구조를 입증하였다.

[0235]

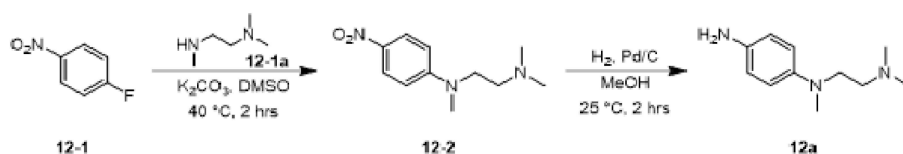
LCMS: 생성물 $\text{RT}=1.229$ mins, $m/z = 393.2$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺

[0236]

^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 9.25 (s, 1H), 7.55–7.60 (m, 1H), 7.49–7.51 (m, 1H), 7.34–7.37 (m, 1H), 4.53–4.57 (m, 1H), 3.90–3.92 (m, 1H), 2.15–2.20 (m, 2H), 1.86–1.89 (m, 4H), 1.60–1.64 (m, 2H), 0.93 (s, 9H), 0.08 (s, 6H).

[0237]

1.2.3 화합물 12a의 합성



[0238]

[0239] 디메틸술폭시드(10.0 mL)에 용해된 화합물 12-1(2.00 g, 14.2 mmol, 1.50 mL, 1.00 eq) 및 화합물 12-1a(1.59 g, 15.6 mmol, 2.03 mL, 1.10 eq)의 용액에 K_2CO_3 (3.92 g, 28.4 mmol, 2.00 eq)을 첨가하고, 얻은 혼합물을 40°C 에서 2시간 동안 교반하였다. TLC(석유에테르:에틸아세테이트=5:1)에 따르면 화합물 12-1($R_f=0.6$)이 유지되고, 새로운 생성물의 형성이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, H_2O (100 mL)로 반응 혼합물을 희석하고 에틸아세테이트(100 mL*2)로 추출하며, 포화 염수(200 mL)로 합한 유기층을 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 감압 농축하여 화합물 12-2(3.20 g, 원유)를 얻으며, ^1H NMR로 구조를 확인한 후 다음 단계에 사용하고, 추가 정제는 없었다.

[0240]

^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 8.09–8.12 (m, 2H), 6.59–6.62 (m, 2H), 3.55 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.10 (s, 1H), 2.50 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.30 (s, 6H).

[0241]

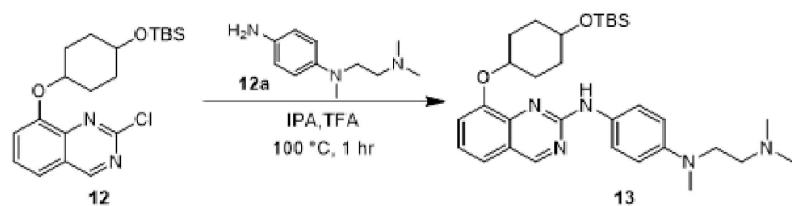
MeOH(30.0 mL)에 용해된 화합물 12-2(3.20 g, 14.3 mmol, 1.00당량)의 용액에 Pd/C(1.00 g, 10%의 순도, 1.00당량)를 첨가하였다. 현탁액을 진공 하에서 탈기하고, 수소 가스로 여러 번 퍼징한 후 얻은 용액을 25°C 의 H_2 (15 psi) 분위기 하에서 2시간 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올=10:1)에 따르면 화합물 12-2($R_f=0.5$)의 원료 반점이 사라지고, 새로운 화합물의 형성이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 혼합물을 여과하고 농축하여 화합물 12a(2.30 g, 11.9 mmol, 83.0%의 수율)를 얻고, 생성물은 적갈색 오일이며, ^1H NMR로 구조를 확인하고, 추가 정제는 없었다.

[0242]

^1H NMR(400 MHz, DMSO) δ 6.47–6.54 (m, 4H), 4.34 (br. s, 2H), 3.19 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.72 (s, 1H),

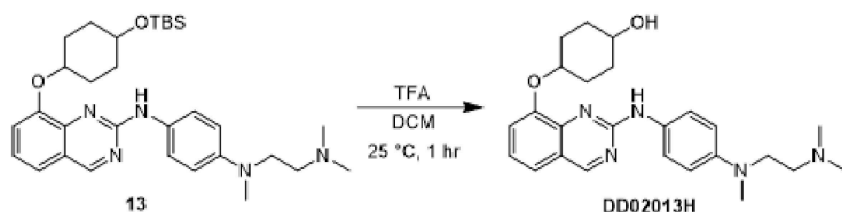
2.30 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.14 (s, 6H).

[0243] 1.2.4 화합물 13의 합성



IPA(3.00 mL)에 용해된 화합물 12(100 mg, 254 μmol , 1.00 eq) 및 화합물 12a(59.0 mg, 305 μmol , 1.20 eq)의 용액에 TFA(29.0 mg, 255 μmol , 18.8 μL , 1.00 eq)를 첨가하였다. 얻은 혼합물을 100°C에서 1시간 동안 교반하였다. LCMS에 따르면 표적 생성물 분자량(RT=0.913분)이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 에틸아세테이트(100 mL)로 추출하고, 포화 NaHCO_3 용액(50.0 mL), 염수(50.0 mL)로 연속적으로 유기상을 세척하며, 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 농축하여 노란색 고체의 화합물 13(130 mg, 조생성물)을 얻고, 정제 없이 다음 단계에 직접 사용하였다.

[0246] 1.2.5 화합물 DD02013H의 합성



DCM(5.00 mL)에 용해된 화합물 13(130 mg, 236 μmol , 1.00당량)의 용액에 TFA(0.50 mL)를 첨가하고, 얻은 혼합물을 25°C에서 1시간 동안 교반하였다. LCMS에 따르면 표적 생성물 분자량(RT=0.701분)이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 혼합물을 농축하여 잔류 고체를 얻고, 분취용 고성능 액체 크로마토그래피로 정제하며, 얻은 고체를 포화 NaHCO_3 용액으로 pH=8로 조절하고, DCM(50.0 mL*2)로 추출하며, 염수(50.0 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 농축하여 노란색 고체, 표적 화합물 DD02013H(47.6 mg, 130.7 μmol , 55.3%의 수율, 94.9%의 순도)을 얻으며, LCMS, HPLC 및 ^1H -NMR로 구조를 확인하였다.

[0249] LCMS 생성물 RT=0.997 min, $m/z = 436.3$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺

[0250] HPLC 생성물 RT=2.951 mins, purity: 95.6%

[0251] ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 9.00 (s, 1H), 7.83 - 7.85 (m, 2H), 7.29 - 7.31 (m, 1H), 7.17 - 7.19 (m, 3H), 6.85 - 6.87 (m, 2H), 4.78 - 4.79 (m, 1H), 3.76 - 3.81 (m, 1H), 3.49 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.95 (s, 3H), 2.54 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.33 (s, 6H), 2.16 - 2.21 (m, 2H), 2.03 - 2.06 (m, 2H), 1.80 - 1.83 (m, 2H), 1.69 - 1.73 (m, 2H).

[0252] 1.3 화합물 DD02014H: 4-((2-((1-(1-메틸피페리딘-4-일)-1H-피라졸-4-일)아미노)퀴나졸린-8-일)옥소)시클로헥산-1-올의 합성

[0253] 화합물 DD02014H의 합성 경로는 도 11에 도시된 바와 같다.

[0254] DMF(10.0 mL)에 용해된 화합물 8(400 mg, 1.23 mmol, 1.00 eq) 및 화합물 11a(569.1 mg, 1.48 mmol, 1.20 eq)의 용액에 Cs_2CO_3 (1.00 g, 3.08 mmol, 2.50 eq)을 첨가하고, 얻은 혼합물을 80°C에서 1시간 동안 교반하였다. LCMS에 따르면 표적 생성물 분자량(RT=0.958분)이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 에틸아세테이트(100 mL)를 첨가하고, 포화 NaHCO_3 용액(50.0 mL), 염수(50.0 mL)로 연속적으로 유기상을 세척하며, 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 농축하여 잔류물을 얻고, 상기 잔류물을 석유에테르:에틸아세테이트(3:1, 20.0 mL)로 진탕하면서 분산시킨 후 여과하고 건조시켜 노란색 고체, 화합물 14(300 mg, 559 μmol , 45.3%의 수율)를 얻으며, LCMS로 구조를 특성화하였다.

[0255] LCMS 생성물 RT=0.912 min, m/z =537.3 (M+H)⁺.

[0256] 25℃에서 화합물 14(300 mg, 559 umol, 1.00 eq)와 HCl/MeOH(4 M, 10.0 mL, 71.6 eq)의 혼합물을 1시간 동안 교반하고, LCMS(EW20001-117-P1A1)생성물이 사라지고, 표적 생성물 분자량이 나타난(RT=0.729분) 것이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 혼합물을 농축하고, 얻은 고체를 분취용 HPLC로 정제한 직후 포화 NaHCO₃ 용액으로 혼합물을 pH=8로 조절하며, DCM(50.0 mL*2)으로 추출하고, 염수(50.0 mL)로 유기상을 세척하며, 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 농축하여 노란색 고체, 화합물 DD02014H(35.5 mg, 138 umol, 24. 6%의 수율, 96.9%의 순도)를 얻고, LCMS, HPLC 및 ¹H NMR로 구조를 확인하였다.

[0257] LCMS 생성물 RT=0.730 min, m/z =423.2 (M+H)⁺

[0258] HPLC 생성물 RT=1.192 mins, purity: 98.0%

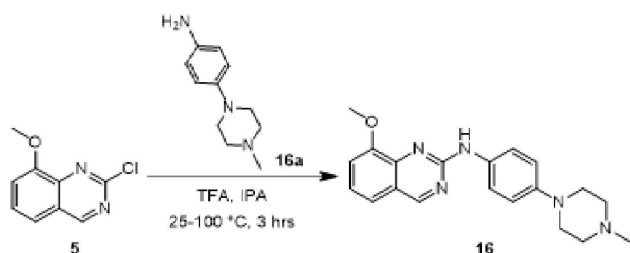
[0259] ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 9.01 (s, 1H), 8.61 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.28 - 7.30 (m, 1H), 7.17 - 7.22 (m, 3H), 4. 66 - 4. 68 (m, 1H), 4. 23 - 4. 30 (m, 1H), 3.85 - 3.89 (m, 1H), 2.99 - 3.03 (m, 2H), 2.33 (s, 3H), 2.25 - 2.29 (m, 4H), 2.15 - 2.17 (m, 4H), 1.95 - 2.06 (m, 2H), 1.84 - 1.88 (m, 4H).

[0260] 1.4 화합물 DD02006H: 4-((2-((4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)퀴나졸린-8-일)옥소)시클로헥산-1-올의 합성

[0261] 화합물 DD02006H의 합성 경로는 도 12에 도시된 바와 같다.

[0262] 1.4. 1 화합물 16의 합성

[0263] 25℃에서, IPA(20.0 mL)에 용해된 화합물 5(1.00 g, 5.14 mmol, 1.00 eq) 및 화합물 16a(1.08 g, 5.65 mmol, 1.10 eq)의 용액에 TFA(586 mg, 5.14 mmol, 380 uL, 1.00 eq)를 첨가하고, 균일하게 혼합한 후, 반응 혼합물을 100℃로 가열하고 교반하면서 3시간 동안 반응시켰다.

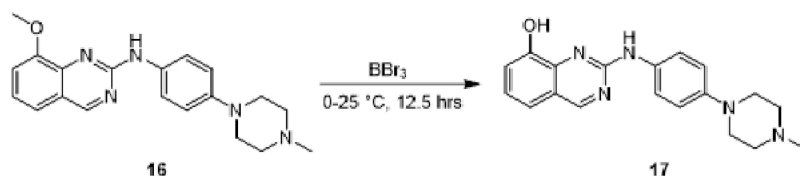


[0264]

[0265] LCMS에 따르면 표적 생성물의 분자량(RT=0.691분)이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 혼합물을 30.0 mL의 H₂O에 부은 다음 에틸아세테이트(60.0 mL*4)로 추출하고, 염수(60.0 mL*2)로 유기층을 세척하며, 무수 Na₂SO₄로 건조시킨 후 여과하고 감압 농축하여 노란색 고체의 화합물 16(1.50 g, 조생성물)을 얻었다. 제품을 정제 없이 다음 단계에 직접 사용하였다.

[0266] LCMS: 생성물 RT=0.691 min, m/z =350.2 (M+H)⁺

[0267] 1.4.2 화합물 17의 합성



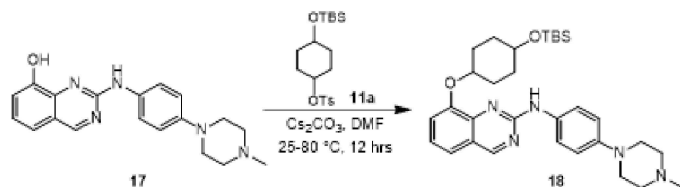
[0268]

[0269] 0℃에서, DCM(20.0 mL)에 용해된 화합물 16(1.30 g, 3.72 mmol, 1.00 eq)의 용액에 DCM(10.0 mL)에 용해된 BBr₃(2.80 g, 11.2 mmol, 1.08 mL, 3.00 eq)을 한방울씩 첨가하고, 적가가 완료된 후 0℃에서 30분 동안 교반한 직후 혼합물을 25℃로 가열하고 12시간 동안 교반하였다. LCMS에 따르면 표적 생성물의 분자량(RT=0.677분)이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 혼합물을 얼음물(30.0 mL)에 붓고, 에틸아세테이트(60.0 mL*3)로

추출하며, 염수로 유기층(30.0 mL*2)을 세척하고, 무수 Na_2SO_4 로 건조시킨 후 여과하고 감압 농축하여 회색 고체의 화합물 17(1.20 g, 조생성물)을 얻었다. 제품을 정제 없이 다음 단계에 직접 사용하였다.

[0270] LCMS: 생성물 RT=0.677 min, $m/z = 336.2$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺

[0271] 1.4.3 화합물 18의 합성

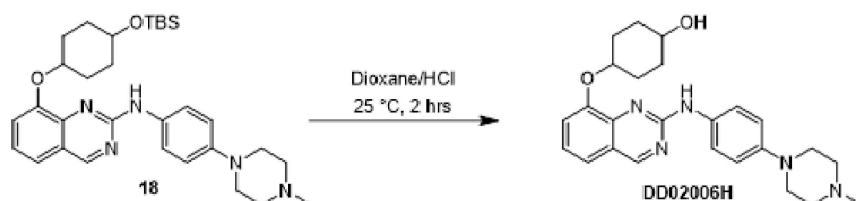


[0272]

[0273] 화합물 17(150 mg, 447 μmol , 1.00 eq), 화합물 11a(276 mg, 894 μmol , 2.00 eq) 및 Cs_2CO_3 (364 mg, 1.12 mmol, 2.50 eq)을 DMF(10.0 mL)에 용해시킨 직후 혼합물을 80°C로 가열하고 12시간 동안 반응시켰다. LCMS에 따르면 표적 제품 분자량(RT=0.934분)이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 혼합물을 30.0 mL의 H_2O 에 부은 다음 에틸아세테이트(30.0 mL*4)로 추출하고, 유기층을 염수(30.0 mL*2)로 세척하며, 무수 Na_2SO_4 로 건조시킨 후 여과하고 감압 농축하여 노란색 고체의 화합물 18(200 mg, 조생성물)을 얻었다. 제품을 정제 없이 다음 단계에 직접 사용하였다.

[0274] LCMS 생성물: RT=0.934 min, $m/z = 548.4$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺

[0275] 1.4.4 화합물 DD02006H의 합성



[0276]

[0277] 25°C에서 DCM(6.00 mL)에 용해된 화합물 18(200 mg, 365 μmol , 1.00 eq)의 용액에 HCl/1,4-디옥산(4 M, 2.00 mL, 21.9 eq)을 적가하고, 얻은 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. LCMS에 따르면 표적 생성물 분자량(RT=0.746 분)이 검출된 것으로 나타났다. 박층 크로마토그래피(DCM:MeOH=8:1, 물질 $R_f=0.5$, 제품 $R_f=0.2$)에 따르면 새로운 반점이 형성되고, 잔류 물질이 없는 것으로 나타났다. 혼합물을 30.0 mL의 H_2O 에 붓고, 포화 NaHCO_3 으로 pH 값을 약 8로 조절한 다음 에틸아세테이트(30.0 mL*4)로 추출하며, 염수(30.0 mL*2)로 유기층을 세척하고, 무수 Na_2SO_4 로 건조시킨 후 여과하고 감압 농축하였다. 조생성물을 예비 고성능 액체 크로마토그래피에 적용하고, 감압 농축하여 노란색 고체의 표적 생성물(68.6 mg, 157 μmol , 43.1%의 수율, 99.4%의 순도)을 얻으며, ^1H NMR, LCMS 및 HPLC로 구조를 확인하였다.

[0278] LCMS 생성물: RT=0.734 min, $m/z = 434.3$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺;

[0279] HPLC 생성물 RT=1.373 mins, 99.4%의 순도;

[0280] ^1H NMR(400 MHz, DMSO) δ 9.57 - 9.71 (m, 1H), 9.12 - 9.27 (m, 1H), 7.90 - 8.06 (m, 2H), 7.40 - 7.47 (m, 1H), 7.28 - 7.34 (m, 1H), 7.18 - 7.26 (m, 1H), 6.86 - 6.99 (m, 2H), 4.75 (br s, 1H), 4.52 - 4.64 (m, 1H), 3.63 (br s, 1H), 3.07 (br d, $J=4.0$ Hz, 4H), 2.24 (s, 3H), 1.91 - 2.05 (m, 2H), 1.74 - 1.87 (m, 2H), 1.56 - 1.72 (m, 4H).

[0281] 1.5 화합물 DD02008H: 8-(2-메톡시에톡시)-N-(4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)퀴나졸린-2-아민의 합성

[0282] 도 13은 화합물 DD02008H의 합성 경로를 나타낸다.

[0283] 화합물 17(150 mg, 447 μmol , 1.00 eq), 화합물 17a(68.4 mg, 492 μmol , 46.2 μL , 1.10 eq) 및 Cs_2CO_3 (437 mg, 1.34 mmol, 3.00 eq)을 DMF(10.0 mL)에 용해시킨 다음 혼합물을 80°C로 가열하고 교반하면서 12시간 동안 반응

시키며, LCMS에 따르면 표적 제품 분자량(RT=0.703분)이 검출된 것으로 나타났다. 박층 크로마토그래피(DCM:MeOH=10:1, 물질 R_f=0.1, 제품 R_f=0.3)에 따르면 새로운 반점이 형성되고, 초기 원료가 없는 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 혼합물을 30.0 mL의 H₂O에 부은 다음 에틸아세테이트(30.0 mL*4)로 추출하고, 염수(30.0 mL*2)로 유기층을 세척하며, 무수 Na₂SO₄로 건조시킨 후 여과하고 감압 농축하였다. 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, DCM/MeOH=20/1 내지 5/1)로 정제하여 노란색 고체의 표적 화합물 DD02008H(71.94 mg, 183 umol, 40.9%의 수율, 98.6%의 순도)를 얻고, ¹H NMR, LCMS 및 HPLC로 구조를 확인하였다.

[0284] LCMS 생성물: RT=0.710 min, m/z =416.2 (M+H)⁺

[0285] HPLC 생성물: RT=1.267 min, 98.7% purity

[0286] ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 9.04 (s, 1H), 7.72 (br d, J =8.0 Hz, 2H), 7.33 (dd, J =8.0, 4.0 Hz, 1H), 7.15 - 7.24 (m, 2H), 6.97 (d, J =8.0 Hz, 2H), 4.33 - 4.41 (m, 2H), 3.91 - 3.99 (m, 2H), 3.56 (s, 3H), 3.13 - 3.25 (m, 4H), 2.58 - 2.65 (m, 4H), 2.38 (s, 3H).

[0287] 1.6 화합물 DD02015H: 3-((2-((4-(4-메틸피페라진-1-일)페닐)아미노)퀴나졸린-8-일)옥소)시클로헥탄-1-올의 합성

[0288] 도 14는 화합물 DD02015H의 합성 경로를 나타낸다.

[0289] 화합물 17(150 mg, 447 umol, 1.00 eq), 화합물 18a(331 mg, 894 umol, 2.00 eq) 및 Cs₂CO₃(364 mg, 1.12 mmol, 2.50 eq)을 DMF(10.0 mL)에 용해시킨 다음 혼합물을 80℃로 가열하고 교반하면서 12시간 동안 반응시켰다. LCMS에 따르면 표적 제품 분자량(RT=0.893min)이 검출된 것으로 나타나고, TLC(DCM:MeOH=10:1, 물질 R_f=0.1, 제품 R_f=0.25)에 따르면 새로운 반점이 형성되고, 초기 원료가 없는 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 얻은 혼합액을 30 mL의 물에 부은 직후 에틸아세테이트(30.0 mL * 4)로 추출하고, 염수(30.0 mL * 2)로 세척하며, 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 감압하여 용매를 제거하고, 얻은 잔류 고체를 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, DCM/MeOH=20/1 내지 5/1)로 정제하여 노란색 고체의 화합물 19(200 mg, 375 umol, 83.8%의 수율)를 얻었다.

[0290] LCMS 생성물: RT=0.893 min, m/z =534.4 (M+H)⁺

[0291] 화합물 19(200 mg, 375 umol, 1.00 eq)를 DCM(6.00 mL)에 용해시키고, 25℃에서 HCl/1,4-디옥산(4 M, 4.00 mL, 42.7 eq)을 적가하며, 적가가 완료된 후, 교반하면서 2시간 동안 반응시켰다. LCMS에 따르면 표적 생성물 분자량(RT=0.721min)이 검출된 것으로 나타나고, 고성능 액체 크로마토그래피에 따르면 초기 원료는 반응이 완료된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후 혼합물을 30.0 mL의 H₂O에 붓고, 포화 NaHCO₃으로 pH 값을 약 8로 조절한 다음 에틸아세테이트(30.0 mL*4)로 추출하며, 유기층을 염수(30.0 mL*2)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조시킨 후 여과하고 감압 농축하며, 얻은 조생성물을 분취용 고성능 액체 크로마토그래피로 정제하여 노란색 고체의 표적 화합물 DD02015H(110 mg, 262 umol, 70.0%의 수율, 100%의 순도)를 얻고, ¹H NMR, LCMS 및 HPLC로 구조를 확인하였다.

[0292] LCMS 생성물: RT=0.716 min, m/z =420.3 (M+H)⁺

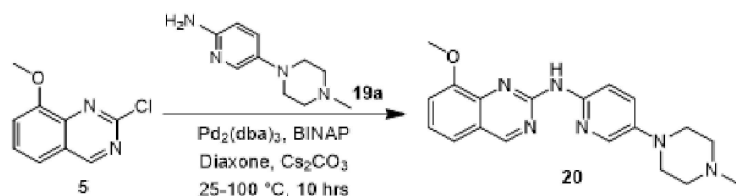
[0293] HPLC 생성물: RT=1.286 min, 100%의 순도.

[0294] ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 9.04 (s, 1 H), 7.60 (br d, J =8.0 Hz, 2 H), 7.32 - 7.38 (m, 1 H), 7.21 - 7.24 (m, 2 H), 6.93 - 7.01 (m, 2 H), 5.15 (t, J =4.0 Hz, 1 H), 4.41 (br t, J =4.0 Hz, 1 H), 3.17 - 3.26(m, 4 H), 2.62 (m, 4 H), 2.38 (s, 3 H), 1.94 - 2.20 (m, 6 H).

[0295] 1.7 화합물 DD02021H: 4-((2-((5-(4-메틸피페라진-1-일)피리딘-2-일)아미노)퀴나졸린-8-일)옥소)시클로헥산-1-올의 합성

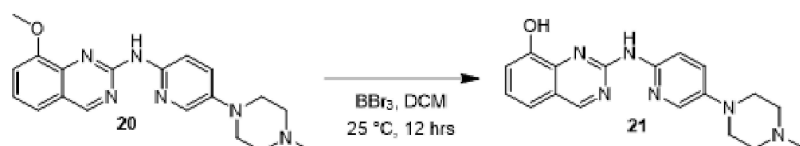
[0296] 도 15는 화합물 DD02021H의 합성 경로를 나타낸다.

1.7.1 화합물 20의 합성



25℃에서, 화합물 5(500 mg, 2.57 mmol, 1.00 eq), 화합물 19a(988 mg, 5.14 mmol, 2.00 eq), Pd₂(dba)₃(353 mg, 386 μmol, 0.15 eq) 및 BINAP(184 mg, 295 μmol, 1.15e-1 eq)로 1,4-디옥산(30.0 mL)에 용해시키고, 얻은 혼합물에 Cs₂CO₃(1.67 g, 5.14 mmol, 2.00 eq)을 첨가한 다음 반응 혼합물을 100℃로 가열하고 교반하면서 10시간 동안 반응시켰다. LCMS에 따르면 표적 생성물 분자량(RT=0.643분)이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 혼합물을 30.0 mL의 H₂O에 부은 다음 DCM(50.0 mL*3)으로 추출하고, 유기층을 염수(30.0 mL*3)로 세척하며, 무수 Na₂SO₄로 건조시킨 후 여과하고 감압 농축하여 노란색 고체의 화합물 20(600 mg, 조생성물)을 얻었다. 제품을 정제 없이 직접 다음 단계의 반응에 사용하였다.

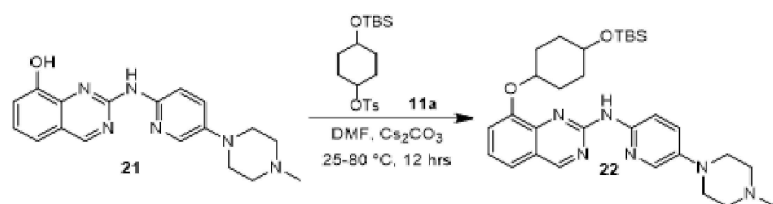
1.7.2 화합물 21의 합성



화합물 20(600 mg, 1.71 mmol, 1.00 eq)을 DCM(10.0 mL)에 용해시키고, 얻은 용액을 DCM(5.00 mL)에 용해된 BBr₃(429 mg, 1.71 mmol, 165 μL, 1.00 eq)에 한방울씩 첨가하며, 적가가 완료된 후, 시스템을 25℃에서 교반하면서 12시간 동안 반응시켰다. LCMS에 따르면 표적 생성물 분자량(RT=0.321분)이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 혼합물을 얼음물(40.0 mL)에 붓고, 포화 NaHCO₃으로 pH를 약 8로 조절한 다음 DCM(50.0 mL*3)으로 추출하며, 유기층을 염수(30.0 mL*3)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 감압 농축하여 노란색 고체의 화합물 21(600 mg, 조생성물)을 얻었다. 제품을 정제 없이 직접 다음 단계의 반응에 사용하였다.

LCMS 생성물 RT=0.324 min, m/z =337.2 (M+H)⁺

1.7.3 화합물 22의 합성

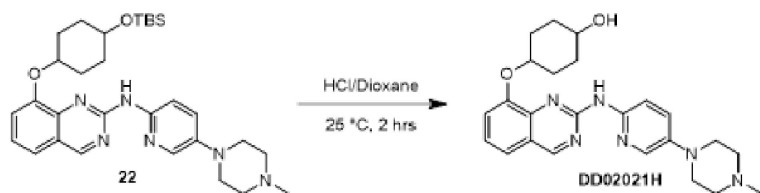


화합물 21(600 mg, 1.78 mmol, 1.00 eq), 화합물 11a(1.37 g, 3.57 mmol, 2.00 eq) 및 Cs₂CO₃(1.45 g, 4.46 mmol, 2.50 eq)을 DMF(10.0 mL)에 용해시키고, 얻은 혼합물을 80℃로 가열하고 12시간 동안 반응시켰다. LCMS에 따르면 표적 생성물 분자량(RT=0.830분)이 검출된 것으로 나타나고, 박층 크로마토그래피(DCM:MeOH=10:1, 물질 R_f=0.1, 제품 R_f=0.3)에 따르면 새로운 반점이 형성되고, 초기 원료가 없는 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 혼합물을 30.0 mL의 H₂O에 부은 다음 에틸아세테이트(60.0 mL*3)로 추출하고, 유기층을 염수(40.0 mL*2)로 세척하며, 무수 Na₂SO₄로 건조시킨 후 여과하고 감압 농축하며, 얻은 물질을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, DCM/MeOH=40/1 내지 5/1)로 정제하여 노란색 고체의 화합물 22(700 mg, 1.08 mmol, 60.5%의 수율, 84.6%의 순도)를 얻었다.

LCMS 생성물 RT=0.830 min, m/z =549.4 (M+H)⁺

[0308] HPLC 생성물 RT=2.563 mins, 84. 6%의 순도.

[0309] 1.7.4 화합물 DD02021H의 합성



[0310]

[0311] 화합물 22(600 mg, 925 umol, 1.00당량), HCl/1,4-디옥산(4 M, 6.00 mL, 25.9당량)을 DCM(10.0 mL)에 용해시키고, 얻은 혼합물을 25℃에서 교반하면서 1시간 동안 반응시켰다. LCMS에 따르면 표적 생성물 분자량(RT=0.680min)이 검출된 것으로 나타나고, 박층 크로마토그래피(DCM:MeOH=10:1, 물질 R_f=0.3, 제품 R_f=0.15)에 따르면 새로운 반점이 형성되고, 초기 원료가 없는 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 교반하면서 혼합물을 40.0 mL의 H₂O에 천천히 부은 다음 에틸아세테이트(80.0 mL*3)로 추출하고, 유기층을 염수(50.0 mL*2)로 세척하며, 무수 Na₂SO₄로 건조시킨 후 여과하고 감압 농축하였다. 얻은 고체 분취용 고성능 액체 크로마토그래피로 정제하고, 얻은 물질을 포화 NaHCO₃으로 pH를 약 8로 조절한 다음 DCM(40.0 mL*4)으로 추출하며, 염수(40.0 mL*3)로 유기층을 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조시킨 후 감압하고 여과한 후 농축하여 노란색 고체의 표적 생성물 DD02021H(148 mg, 329 umol, 35.6%의 수율, 96.7%의 순도)를 얻으며, ¹H NMR, LCMS 및 HPLC로 구조를 확인하였다.

[0312] LCMS 생성물 RT=0.717 min, m/z =435.3 (M+H)⁺

[0313] HPLC 생성물 RT=1.232 min, 96.7%의 순도

[0314] ¹H NMR(400 MHz, DMSO) δ 9.74 (s, 1H), 9.26(s, 1H), 8.86 (d, J =8.0 Hz, 1H), 8.02 (d, J =4. 0 Hz, 1H), 7.43 - 7.57 (m, 2H), 7.24 - 7.40 (m, 2H), 4. 78 (br s, 1H), 4. 62 - 4. 73 (m, 1H), 3.54 - 3.69 (m, 1H), 3.08 - 3.16 (m, 4H), 2.47 (m, 3H), 2.23(s, 3H), 1.93 - 2.04 (m, 2H), 1.74 - 1.88 (m, 2H), 1.58 - 1.72 (m, 4H).

[0315] 1.8 화합물 DD02018H: 4-((8-((4-히드록실시클로헥실)옥소)퀴나졸린-2-일)아미노)-N-(1-메틸피페리딘-4-일)벤자미드의 합성

[0316] 도 16은 화합물 DD02018H의 합성 경로를 나타낸다.

[0317] 25℃에서, 화합물 11(400 mg, 2.21 mmol, 1.00 eq), 화합물 11a(1.28 g, 3.32 mmol, 1.50 eq) 및 Cs₂CO₃(1.44 g, 4. 43 mmol, 2.00 eq)을 DMF(10.0 mL)에 용해시키고, 얻은 혼합물을 80℃로 가열하고 교반하면서 2시간 동안 반응시켰다. LCMS에 따르면 표적 생성물 분자량(RT=1.218min)이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 혼합물을 40.0 mL의 H₂O에 천천히 부은 다음 DCM(80.0 mL*3)으로 추출하고, 유기층을 염수(50.0 mL*2)로 세척하며, 무수 Na₂SO₄로 건조시킨 후 여과하고 감압 농축하여 회색 고체의 화합물 15(310 mg, 조생성물)를 얻었다. 제품을 정제 없이 직접 다음 단계의 반응에 사용하였다.

[0318] 화합물 15(260 mg, 661 umol, 1.00 eq), 화합물 15a(231.53 mg, 992.38 umol, 1.50 eq) 및 TFA(75.4 mg, 661 umol, 49.0 uL, 1.00 eq)를 IPA(10.0 mL)에 용해시킨 다음 얻은 혼합물을 80℃로 가열하고 교반하면서 2시간 동안 반응시킨 다음 혼합물을 100℃로 가열하고 2시간 동안 교반하였다. LCMS에 따르면 표적 생성물 분자량(RT=0.762분)이 검출된 것으로 나타나고, 고성능 액체 크로마토그래피에 따르면 순도는 59.7%(RT=1.535분)인 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 교반하면서 혼합물을 40.0 mL의 H₂O에 천천히 붓고, 포화 NaHCO₃으로 pH를 약 8로 조절한 다음 DCM(80.0 mL*3)으로 추출하며, 유기층을 염수(50.0 mL*2)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 감압 농축하며, 얻은 조생성물을 분취용 고성능 액체 크로마토그래피로 정제하고, 얻은 물질을 포화 NaHCO₃으로 pH를 약 8로 조절하며, DCM(40.0 mL*4)으로 추출하고, 염수로(40.0 mL*3) 유기층을 세척하며, 무수 Na₂SO₄로 건조시킨 후 여과하고 농축하여 담황색 고체의 표적 생성물 DD02018H(17.1 mg, 35.13

umol, 5.31%의 수율, 97.7%의 순도)을 얻고, ^1H NMR, LCMS 및 HPLC로 구조를 확인하였다.

[0319] LCMS 생성물 RT=0.771 min, m/z =476.2 (M+H)⁺

[0320] HPLC 생성물 RT=1.535 mins, 97.3%의 순도

[0321] ^1H NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.15 (br s, 1H), 9.30 (br s, 1H), 8.23(br d, *J* =8.0 Hz, 2H), 8.13 (br s, 1H), 7.83 (br d, *J* =8.0 Hz, 2H), 7.49 (br s, 1H), 7.27 - 7.42 (m, 2H), 4.73 (br s, 1H), 4.60 (br s, 1H), 3.87 (br s, 1H), 3.07 (br s, 2H), 2.62 - 2.67 (m, 2H), 2.33 (br s, 3H), 1.84 - 2.08 (m, 3H), 1.73 (m, 9H).

[0322] 1.9 화합물 DD02002H: 4-((8-((3-히드록실시클로펜틸)옥소)퀴나졸린-2-일)아미노)벤젠술폰아미드의 합성

[0323] 도 17은 화합물 DD02002H의 합성 경로를 나타낸다.

[0324] 1.9.1 화합물 23의 합성

[0325] 질소 가스의 보호 하에서, 화합물 11(200 mg, 1.11 mmol)을 무수 테트라히드로푸란(5 mL)에 용해시키고, 트리페닐포스포란(581 mg, 2.22 mmol), DIAD(449 mg, 2.22 mmol)를 순차적으로 첨가하여 15분 동안 교반하며, 최종적으로 1, 3-시클로펜탄디올(즉 화합물 22, 340.1 mg, 3.33 mmol)을 첨가하고, 반응액을 실온에서 밤새 교반하며, TLC(PE/EA=3:1)로 분석한 결과 원료의 소모가 완료되고, 새로운 생성물 반점이 생성된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 얻은 혼합물을 농축하고 용매를 제거하며, 조생성물을 실리카겔 컬럼으로 분리하여 담황색 고체의 화합물 23(210 mg)을 얻고, 수율 71.5%였다.

[0326] LCMS 생성물 RT=2.76 min, m/z =265.1 (M+H)⁺

[0327] 1.9.2 화합물 DD02002H의 합성

[0328] 질소 가스의 보호 하에서, 화합물 23(200 mg, 0.76 mmol)을 이소프로판올(5 mL)에 용해시키고, p-아미노벤젠술폰아미드(260.2 mg, 1.51 mmol)를 첨가하며, 반응을 90℃로 가열하고 밤새 반응시키고, 박층 크로마토그래피로 분석한 결과 일부 원료가 남아 있고, 새로운 생성물 반점이 생성된 것으로 나타나며, LCMS에 따르면 표적 생성물 분자량이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 농축하고 얻은 조생성물을 실리카겔 컬럼으로 분리하여 표적 분자 DD02002H(104 mg)를 얻으며, 수율 34%이고, 이는 백색 고체이며, ^1H NMR 및 LCMS로 구조를 확인하였다.

[0329] LCMS 생성물 RT=3.46 min, m/z =401.1 (M+H)⁺

[0330] ^1H NMR(400 MHz, MeOD) δ 9.21(s, 1H), 8.23-8.25(m, 2H), 7.87-7.89(m, 2H), 7.48(d, *J* =7.6 Hz, 1H), 7.33-7.37(m, 2H), 4.36(m, 1H), 4.20(m, 1H), 1.76-2.10(m, 6H).

[0331] 1.10 화합물 DD02019H: 3-((8-((4-히드록실시클로헥실)옥소)퀴나졸린-2-일)아미노)벤젠술폰아미드의 합성

[0332] 도 18은 화합물 DD02019H의 합성 경로를 나타낸다.

[0333] 1.10.1 화합물 26의 합성

[0334] 질소 가스의 보호 하에서, 화합물 11(200 mg, 1.11 mmol)을 무수 테트라히드로푸란(5 mL)에 용해시키고, 트리페닐포스포란(581 mg, 2.22 mmol), DIAD(449 mg, 2.22 mmol)를 순차적으로 첨가하며, 얻은 혼합물을 15분 동안 교반하고, 최종적으로 1,4-시클로헥산디올(387 mg, 3.33 mmol)을 첨가하며, 얻은 반응액을 실온에서 밤새 교반하고, TLC(PE/EA=3:1)로 분석한 결과 원료의 소모가 완료되고, 새로운 생성물 반점이 생성된 것으로 나타나며, LCMS에 따르면 표적 제품 분자량(RT=4.03 min)이 검출되고, 반응액을 농축한 후 얻은 조생성물을 실리카겔 컬럼으로 분리하여 화합물 26(197 mg)을 얻으며, 수율 70.7%이고, 이는 담황색 고체였다.

[0335] LCMS 생성물 RT=4.03 min, m/z =279.1 (M+H)⁺

[0336] 1.10.2 화합물 DD02019H의 합성

[0337] 질소 가스의 보호 하에서, 화합물 26(150 mg, 0.54 mmol)을 이소프로판올(5 mL)에 용해시키고, m-아미노벤젠술폰아미드(185.4 mg, 1.1 mmol)를 첨가하며, 반응을 90℃로 가열하고 밤새 반응시키고, TLC로 분석한 결과 원료

가 남아 있고, 동시에 새로운 생성물 반점이 생성된 것으로 나타나며, LC-MS에 따르면 표적 생성물 분자량이 검출되고, 반응액을 농축하고 얻은 조생성물을 실리카겔 컬럼으로 분리하여 표적 분자 DD02019H(27 mg)를 얻으며, 수율 12.1%이고, 이는 백색 고체이며, LC-MS와 ^1H NMR로 구조를 확인하였다.

[0338] LCMS 생성물 RT=3.54 min, m/z =415.2 (M+H)⁺

[0339] ^1H NMR(400 MHz, MeOD) δ 9.19 (s, 1H), 8.51(m, 2H), 7.34-7.55(m, 5H), 4.62 (m, 1H), 3.73(m, 1H), 1.57-1.94(m, 8H).

[0340] 1.11 식 I-1의 일련의 화합물에 의한 HPK1 키나아제 활성 체외 억제 테스트

표 1

[0341] 실험에 필요한 시약 및 그 출처의 정황이 나열되어 있음

재료 및 시약 명칭	공급 업체	제품 번호
HPK1	Signalchem	M23-11G-10
MBP	Signalchem	M42-52N-1MG
ADP-Glo Kinase Assay	Promega	V9102
DMSO	Sigma	D8418
Sunitinib	Selleck	C64749
ATP	Promega	V915B

[0342] 모든 화합물 테스트의 초기 농도는 10 μM 이고, 3배 농도 구매 희석하며, 총 10개의 농도 지점이 있고, 각 농도는 한 번 반복되었다.

[0343] 1.11.1 화합물에 의한 HPK1 키나아제 활성 체외 억제 테스트

[0344] 실험을 시작하기 전에 50 μM 의 DTT 및 효소 촉매 반응 시스템 완충액을 조제하였다.

[0345] 피펫 건으로 화합물 희석액을 384웰 플레이트에 옮기고, 첨가가 완료된 후 384웰 플레이트를 밀봉한 후 회전 속도 1000g에서 1분 동안 원심분리하며; 키나아제 완충액에서, 2배 농도의 HPK1 용액을 조제한 직후 384웰에 2.5 μL 의 조제된 2배 농도의 HPK1 용액을 첨가하고, 회전 속도 1000 g에서 30초 동안 원심분리한 후 실온에서 10분 동안 배양하며; 키나아제 완충액에서, 2배 농도의 MBP 및 ATP의 혼합액을 제조하고, 상기 반응 시스템에 2.5 μL 의 조제된 2배 농도의 MBP 및 ATP의 혼합액을 첨가하며, 반응이 시작된 후 회전 속도 1000 g에서 30초 동안 원심분리한 직후 실온에서 1시간 동안 배양하고; 반응 시스템에 5 μL 의 ADP-Glo 시약을 첨가하고, 실온에서 40분 동안 배양하며; 10 μL 의 키나아제 검출 시약을 첨가하고, 실온에서 40분 동안 배양한 직후 Envision 2104 플레이트 리더에서 발광 신호를 판독하며, 하기 공식에 따라 억제율을 계산하였다.

[0346] $\% \text{ inhibition} = 100 - (\text{Signal}_{\text{cmpd}} - \text{Signal}_{\text{Ave_PC}}) / (\text{Signal}_{\text{Ave_VC}} - \text{Signal}_{\text{Ave_PC}}) \times 100$

[0347] 상기 공식에서, cmpd는 테스트 화합물을 의미하고, PC는 양성 대조군을 의미하며, VC는 음성 대조군을 의미한다. HPK1 실험에 사용된 양성 대조군은 Sunitinib였다.

표 2

[0348] 각 실시예에 따른 화합물이 HPK1 키나아제 활성에 대한 억제 능력이 나열되어 있음

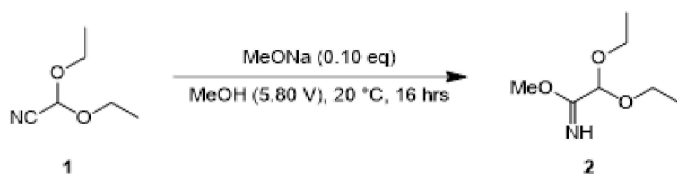
실시예	HPK1 활성/ IC_{50} , nM
1	<50
4	<50
2	<50
6	<100
7	<300
9	<300
5	<200
3	<50
8	<50

10	>300
Sunitinib	5.20

[0349] 2. 식 I-2의 일련의 화합물의 합성 및 HPK1 활성 억제제의 검출

[0350] 2.1 화합물 (1S,2S)-N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-포름아미드(즉 DD02001A_cis) 및 화합물 (1S,2R)-N-(8-아미노-7-플루오로-6-(1-메틸-1H-피롤-2-일)이소퀴놀린-3-일)-2-플루오로시클로프로판-1-포름아미드(즉 DD02001A_trans)의 합성

[0351] 2.1.1 화합물 2의 합성

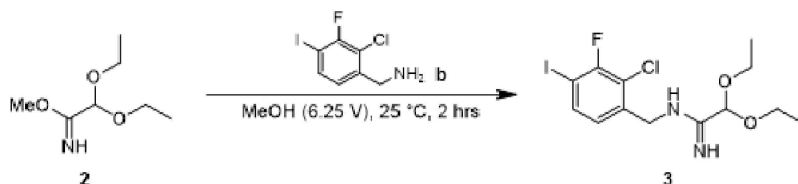


[0352]

[0353] MeOH(2.00 L)에 용해된 화합물 1(345 g, 2.67 mol, 371 mL, 1.00 eq)의 용액에 MeONa(14.4 g, 267 mmol, 0.10 eq)를 첨가하고, N₂로 3회 퍼징한 다음 20℃에서 16시간 동안 교반하였다. TLC(석유에테르/에틸아세테이트=5/1)에 따르면 화합물 1(R_f=0.70)은 사라지고, 하나의 새로운 반점(R_f=0.45)이 검출된 것으로 나타났다. 드라이아이스로 얻은 혼합물의 pH 값을 약 9로 조절한 다음 진공 하에서 농축하여 노란색 혼합물을 얻었다. 혼합물을 물(1.00 L)에 부은 다음 에틸아세테이트(1.00 L*2)로 추출하였다. 유기층을 무수 Na₂SO₄로 건조시킨 후 여과하고, 진공 농축하여 담황색 오일상 물질의 화합물 2(400g, 2.48 mol, 수율 92.9%)를 얻으며, ¹H NMR로 구조를 확인하였다.

[0354] ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 7.89 (s, 1H), 4.80 (s, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.61 -3.53 (m, 4H), 1.24 (t, J =7.2 Hz, 6H).

[0355] 2.1.2 화합물 3의 합성



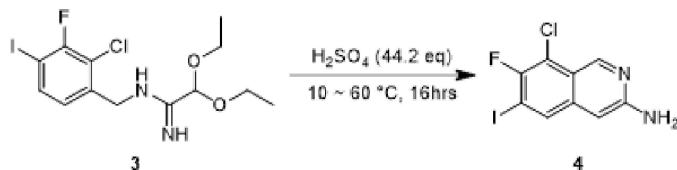
[0356]

[0357] 25℃에서 MeOH(500 mL)에 용해된 화합물 b(80.0 g, 171 mmol, 61.0%의 순도, 1.00 eq)의 용액에 화합물 2(41.3 g, 256 mmol, 1.50 eq)를 첨가한 다음 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS에 따르면 화합물 b가 사라지고, 원하는 질량이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 45℃에서, 감압 하에서 얻은 액체 혼합물을 농축하였다. 에틸아세테이트(1.00 L)로 잔류물을 용해시키고, 염수(200 mL*2)로 세척하였다. 유기상을 Na₂SO₄로 건조시킨 후 여과하고 농축하여 잔류물을 얻었다. 20℃에서 석유에테르/에틸아세테이트(5/1, 150ml)로 잔류물을 분쇄하고, 여과하여 여과 케이크를 얻어 담황색 고체의 화합물 3(53.0g, 121mmol, 수율 71.0%, 순도95.0%)을 얻으며, LC-MS 및 ¹H NMR로 구조를 확인하였다.

[0358] LCMS: m/z =415.0 (M+H)⁺

[0359] ¹H NMR: (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.76 (dd, J =6.2, 8.2 Hz, 1H), 7.13 (d, J =8.0 Hz, 1H), 6.62 - 6.19 (m, 1H), 4.76 (s, 1H), 4.23(s, 2H), 3.66 - 3.42 (m, 4H), 1.15 (t, J =7.0 Hz, 6H).

[0360] 2.1.3 화합물 4의 합성



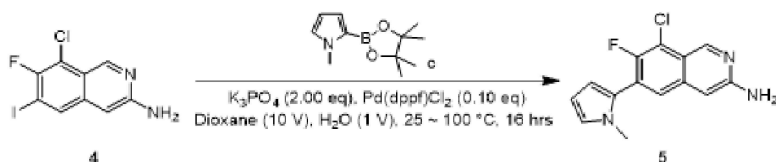
[0361]

[0362] 화합물 3(94.0 g, 212 mmol, 93.5%의 순도, 1.00당량)을 10℃에서 H₂SO₄(920 g, 9.38 mol, 500 mL, 44.2당량)에 첨가한 다음 60℃로 가열하고, 16시간 동안 반응시켰다. LCMS에 따르면 화합물 3의 소모가 완료되고, 표적 생성물 분자량이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 반응액을 25℃로 냉각시키고, 얼음(5.00 L)으로 냉각시키며, NaOH 고체로 pH 값을 약 13으로 조절하고, 온도를 20℃ 이하로 유지하며, 대량의 고체가 나타난 후 여과하고, 여과 케이크를 진공 건조시킨 후 25℃에서 에틸아세테이트(300 mL)로 여과 케이크를 분쇄하여 노란색 고체의 화합물 4(60.0 g, 186 mmol, 87.7%의 수율)를 얻으며, LC-MS 및 ¹H NMR로 구조를 확인하였다.

[0363] LCMS: m/z =322.9 (M+H)⁺

[0364] ¹H NMR: (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.96 (s, 1H), 8.21 (d, J=5.8 Hz, 1H), 6.62 (s, 1H), 6.31 (s, 2H).

[0365] 2.1.4 화합물 5의 합성



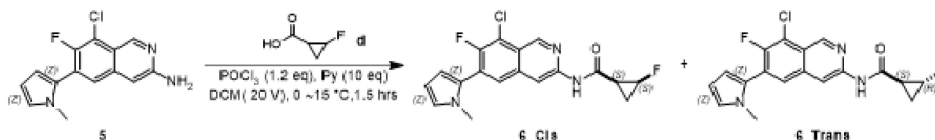
[0366]

[0367] 25℃에서, 화합물 4(41.0 g, 121 mmol, 95.6%의 순도, 1.00당량)와 화합물 C(30.2 g, 146 mmol, 1.20 eq)를 디옥산(410 mL) 및 H₂O(41.0 mL)에 용해시키고, 얻은 용액에 K₃PO₄(51.6 g, 243 mmol, 2.00 eq) 및 Pd(dppf)Cl₂(8.89 g, 12.1 mmol, 0.10 eq)를 첨가하며, 얻은 혼합물을 진공 하에서 탈기하고 N₂로 여러 번 퍼징한 직후 반응을 100℃에서 7시간 동안 교반하였다. LCMS에 따르면 화합물 4가 완전히 소모되고, 표적 생성물 분자량이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 얻은 혼합물을 얼음물(1000 mL)로 켄칭한 다음 디클로로메탄(1000 mL*2)으로 추출하고, 유기층을 무수 Na₂SO₄를 사용하여 건조시킨 후 여과하고 진공 하에서 농축하며, 얻은 고체를 25℃에서 석유에테르/에틸아세테이트(2/1, 200 mL)로 분쇄하여 노란색 고체의 화합물 5(33.0 g, 103 mmol, 85.3%의 수율, 86.7%의 순도)를 얻고, LC-MS와 ¹H NMR로 구조를 확인하였다.

[0368] LCMS: m/z =276.1 (M+H)⁺

[0369] ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 9.20 (s, 1H), 7.41 (d, J=6.6 Hz, 1H), 6.92 - 6.79 (m, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.36 (ddd, J=0.8, 1.6, 3.6 Hz, 1H), 6.27 (dd, J=2.8, 3.6 Hz, 1H), 4.57 (s, 2H), 3.64 (d, J=1.6 Hz, 3H).

[0370] 2.1.5 화합물 6의 합성



[0371]

[0372] 0℃에서 화합물 5(33.0 g, 104 mmol, 86.7%의 순도, 1.00당량), 화합물d(13.0 g, 124 mmol, 1.20 eq) 및 피리딘 Py(82.1 g, 1.04 mol, 83.8 mL, 10.0 eq)를 DCM(500 mL)에 용해시키고, 얻은 용액에 POC1₃(19.3 g, 126 mmol, 11.7 mL, 1.22 eq)을 첨가한 직후 반응액을 15℃에서 교반하면서 1.5시간 동안 반응시켰다. TLC(석유에테르/에틸아세테이트=1/1)에 따르면 화합물 5(R_f=0.40)의 소모가 완료되고, 표적 생성물 반점(R_f=0.47, 0.75)이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 반응 혼합물을 감압 하에서 농축하여 잔류물을 얻고, 잔류물을 실

리카겔 크로마토그래피(석유에테르/에틸아세테이트=8/1-5/1, R_f =0.47, 0.75)로 정제하여 담황색 고체의 화합물 6_cis 시스(7.00g, 19.3mmol, 18.6%의 수율, 100%의 순도), 담황색 고체의 화합물 6_trans 트랜스(5.00g, 13.7mmol, 13.2%의 수율, 99.1%)를 얻었다.

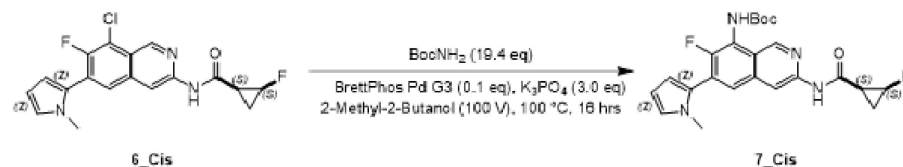
[0373] LCMS: RT=0.959 min, m/z =362.1 (M+H)⁺

[0374] LCMS: RT=0.986 min, m/z =362.1 (M+H)⁺

[0375] 화합물 6_cis: ¹H NMR: (400 MHz, CDCl₃) δ 9.31 (s, 1H), 8.61 (s, 2H), 7.66 (d, J =6.6 Hz, 1H), 6.94 - 6.80 (m, 1H), 6.43 (td, J =1.6, 3.4 Hz, 1H), 6.29 (dd, J =2.8, 3.6 Hz, 1H), 5.00 - 4.73 (m, 1H), 3.66 (d, J =1.4 Hz, 3H), 2.08 - 1.87 (m, 2H), 1.34 - 1.24 (m, 1H).

[0376] 화합물 6_trans: ¹H NMR: (400 MHz, CDCl₃) δ 9.33 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 7.66 (d, J =6.6 Hz, 1H), 6.93 - 6.80 (m, 1H), 6.42 (td, J =1.6, 3.4 Hz, 1H), 6.29 (dd, J =2.8, 3.6 Hz, 1H), 5.10 - 4.81 (m, 1H), 3.66 (d, J =1.4 Hz, 3H), 2.21 - 2.08 (m, 1H), 1.60 - 1.50 (m, 2H).

[0377] 2.1.6 화합물 7_cis의 합성



[0378]

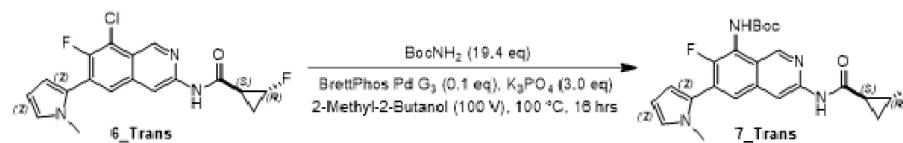
[0379] 화합물 6_Cis(10.0 g, 27.6 mmol, 1.00 eq), BocNH₂(62.8 g, 536 mmol, 19.4 eq), BrettPhos Pd G₃(2.51 g, 2.76 mmol, 0.10 eq) 및 K₃PO₄(17.6 g, 82.9 mmol, 3.00 eq)를 2-메틸-2-부탄올(1.00 L)에 용해시키고, 얻은 용액을 탈기하고 N₂로 3회 퍼징한 다음 100℃에서, N₂ 분위기 하에서 교반하면서 16시간 동안 반응시켰다. LCMS에 따르면 화합물 6_Cis의 소모가 완료되고, 표적 생성물 분자량이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 여과하여 얻은 여액을 진공 하에서 농축하고, 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피(석유에테르/에틸아세테이트=10/1-3/1, R_f =0.40)로 정제하여 담황색 고체의 화합물 7_cis(3.90g, 8.31mmol, 수율 30.1%, 순도 94.3%)를 얻으며, LC-MS 및 ¹H NMR로 구조를 확인하였다.

[0380] LCMS: m/z =443.3 (M+H)⁺

[0381] HPLC: 94. 3% purity under 220 nm.

[0382] ¹H NMR: (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.99 (s, 1H), 9.33 (s, 1H), 9.09 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 7.84 (d, J =6.6 Hz, 1H), 7.00 (d, J =1.8 Hz, 1H), 6.52 - 6.29 (m, 1H), 6.23 - 6.13 (m, 1H), 5.15 - 4.81 (m, 1H), 3.63 (s, 3H), 2.30 - 2.15 (m, 1H), 1.77 - 1.60 (m, 1H), 1.47 (s, 9H), 1.25 - 1.02 (m, 1H).

[0383] 2.1.7 화합물 7_trans의 합성



[0384]

[0385] 화합물 6_trans(10.0 g, 27.6 mmol, 1.00 eq), BocNH₂(62.8 g, 536 mmol, 19.4 eq), BrettPhos Pd G₃(2.51 g, 2.76 mmol, 0.10 eq) 및 K₃PO₄(17.6 g, 82.9 mmol, 3.00 eq)를 2-메틸-2-부탄올(1.00 L)에 용해시키고, 얻은 용액탈기하고 N₂로 3회 퍼징한 다음 100℃에서, N₂ 분위기 하에서 교반하면서 16시간 동안 반응시켰다. LCMS에 따르면 화합물 6_trans가 소모되고, 표적 생성물 분자량이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 여과하고 여액을 감압 농축하여 얻은 고체를 실리카겔 크로마토그래피(석유에테르/에틸아세테이트=10/1-5/1, R_f =0.50)로

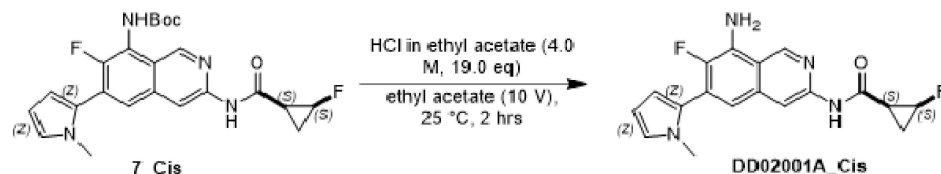
정제하여 담황색 고체의 화합물 7_trans(5.50g, 10.8mmol, 수율 39.3%, 순도 87.4%)를 얻고, LC-MS 및 ^1H NMR로 구조를 확인하였다.

[0386] LCMS: $m/z = 443.3$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

[0387] HPLC: 87.4% purity under 220 nm.

[0388] ^1H NMR: (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.11(s, 1H), 9.33 (s, 1H), 9.09 (s, 1H), 8.45 (s, 1H), 7.82 (d, $J=6.6$ Hz, 1H), 7.04 - 6.93 (m, 1H), 6.45 - 6.31 (m, 1H), 6.17 (dd, $J=2.6, 3.6$ Hz, 1H), 5.11 - 4.77 (m, 1H), 3.62 (s, 3H), 2.74 - 2.57 (m, 1H), 1.67 - 1.42 (m, 10H), 1.27 (dt, $J=6.6, 13.0$ Hz, 1H).

[0389] 2.1.8 화합물 DD02001A_cis의 합성



[0390]

[0391] 화합물 7_Cis(3.90 g, 8.31 mmol, 94.3%의 순도, 1.00당량)를 에틸아세테이트(40.0 mL)에 용해시키고, 25℃에서 HCl/에틸아세테이트(4 M, 39.4 mL, 18.9 eq)를 상기 용액에 첨가하며, 반응을 25℃에서 교반하면서 16시간 동안 반응시켰다. LCMS에 따르면 화합물 7_Cis의 소모가 완료되고, 표적 생성물 분자량이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 얻은 용액을 감압 농축하여 고체를 얻고, 포화 NaHCO_3 수용액으로 pH 값을 약 8로 조절한 다음 디클로로메탄/메탄올=10/1(100 mL)로 잔류물을 추출하며, 얻은 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 감압 증류하여 노란색 고체의 DD02001A_Cis(3.07g, 8.17mmol, 수율 98.3%, 순도 93.2%)를 얻으며, LCMS, ^1H NMR 및 F NMR로 구조를 확인하였다.

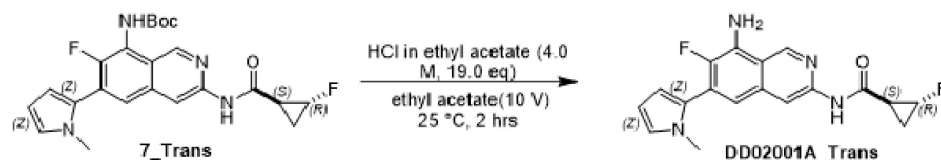
[0392] LCMS: $m/z = 343.2$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

[0393] HPLC: 93.2% purity under 220 nm.

[0394] ^1H NMR: (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.80 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 7.06 - 6.88 (m, 2H), 6.31 - 6.10 (m, 4H), 5.08 - 4.78 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 2.30 - 2.17 (m, 1H), 1.74 - 1.60 (m, 1H), 1.18 - 1.09 (m, 1H)

[0395] ^1H NMR: (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ -141.11, -221.11.

[0396] 2.1.9 화합물 DD02001A_trans의 합성



[0397]

[0398] 화합물 7_trans(5.50 g, 10.8 mmol, 87.0%의 순도, 1.00당량)를 에틸아세테이트(40.0 mL)에 용해시키고, 25℃에서 HCl/에틸아세테이트(4 M, 51.3 mL, 19.0 eq)를 상기 용액에 첨가하며, 얻은 혼합물을 25℃에서 교반하면서 16시간 동안 반응시켰다. LCMS에 따르면 화합물 7_trans의 소모가 완료되고, 표적 생성물 분자량이 검출된 것으로 나타났다. 반응이 완료된 후, 반응액을 감압 농축하여 고체를 얻고, 포화 NaHCO_3 수용액으로 pH 값을 약 8로 조절한 다음 디클로로메탄/메탄올=10/1(100 mL)로 추출하며, 얻은 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 감압 농축하고, 25℃에서 석유에테르/에틸아세테이트=2/1(30 mL)로 슬러리화한 후 여과하며, 여과 케이크를 진공 하에서 건조시킨 후 노란색 고체의 DD02001A_trans(3.30g, 9.20mmol, 85.0%수율, 95.4%의 순도)를 얻고, LCMS, ^1H NMR 및 F NMR로 구조를 확인하였다.

- [0399] LCMS: $m/z = 343.2$ (M+H)⁺
- [0400] HPLC: 95.4% purity under 220 nm.
- [0401] ¹H NMR: (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.94 (s, 1H), 9.38 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.03 - 6.91 (m, 2H), 6.25 - 6.22 (m, 3H), 6.14 - 6.12 (m, 3H), 5.07 - 4.79 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 2.67 - 2.54 (m, 1H), 1.62 - 1.44 (m, 1H), 1.35 - 1.19 (m, 1H)
- [0402] FNMR: (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ -140.94, -206.78.
- [0403] 2.2 식 1-2의 일련의 화합물에 의한 키나아제 활성 체외 억제 테스트

표 3

실험에 필요한 시약

재료 및 시약 명칭	공급 업체	제품 번호
HPK1	Signalchem	M23-11G-10
GCK	Signalchem	M24-10G-10
TNIK	Signalchem	T27-11G-10
MBP	Signalchem	M42-52N-1MG
ADP-Glo Kinase Assay	Promega	V9102
DMSO	Sigma	D8418
Sunitinib	Selleck	C64749
ATP	Promega	V915B
PDK1	Invitrogen	P3001
Staurosporine	MCE	HY-15141

- [0405] 모든 화합물 테스트의 초기 농도는 10 μ M이고, 3배 농도 구배 희석하며, 총 10개의 농도 지점이 있고, 각 농도는 한 번 반복되었다.
- [0406] 2.2.1 화합물에 의한 HPK1 키나아제 활성 체외 억제 테스트
- [0407] 실험을 시작하기 전에 50 μ M의 DTT 및 효소 촉매 반응 시스템 완충액을 조제하였다.
- [0408] 피펫 건으로 화합물 희석액을 384웰 플레이트에 옮기고, 첨가가 완료된 후 384웰 플레이트를 밀봉한 후 회전 속도 1000g에서 1분 동안 원심분리하며; 키나아제 완충액에서, 2배 농도의 HPK1 용액을 조제한 직후 384웰에 2.5 μ L의 조제된 2배 농도의 HPK1 용액을 첨가하고, 회전 속도 1000 g에서 30초 동안 원심분리한 후 실온에서 10분 동안 배양하며; 키나아제 완충액에서, 2배 농도의 MBP 및 ATP의 혼합액을 제조하고, 상기 반응 시스템에 2.5 μ L의 조제된 2배 농도의 MBP 및 ATP의 혼합액을 첨가하며, 반응이 시작된 후 회전 속도 1000 g에서 30초 동안 원심분리한 직후 실온에서 1시간 동안 배양하고; 반응 시스템에 5 μ L의 ADP-Glo 시약을 첨가하고, 실온에서 40분 동안 배양하며; 10 μ L의 키나아제 검출 시약을 첨가하고, 실온에서 40분 동안 배양한 직후 Envision 2104 플레이트 리더에서 발광 신호를 관독하며, 하기 공식에 따라 억제율을 계산하였다.
- [0409] $\% \text{ inhibition} = 100 - (\text{Signal}_{\text{cmpd}} - \text{Signal}_{\text{Ave_PC}}) / (\text{Signal}_{\text{Ave_VC}} - \text{Signal}_{\text{Ave_PC}}) \times 100$
- [0410] 상기 공식에서, cmpd는 테스트 화합물을 의미하고, PC는 양성 대조군을 의미하며, VC는 음성 대조군을 의미한다.
- [0411] 2.2.2 화합물에 의한 GCK, TNIK 및 PDK1 키나아제 활성 체외 억제 테스트
- [0412] 실험 과정은 HPK1 키나아제 활성 억제 테스트 실험과 완전히 일치하고, 차이점은, HPK1 실험에 사용된 양성 대조군은 Sunitinib이며, GCK, TNIK 및 PDK1 실험에 사용된 양성 대조군은 Staurosporine인 것이다.

표 4

[0413] DD02001A_cis 및 DD02001A_trans가 상기 4개의 키나아제 활성에 대한 억제 능력

화합물	활성/IC ₅₀ , nM			
	HPK1	GCK	TNIK	PDK1
DD02001A_cis	<10	>10	>10	>7000
DD02001A_trans	<10	>10	>10	>10000
Sunitinib	<10	-	-	-
Staurosporine	-	0.63	0.422	1.99

[0414] 표 4에 나타난 바와 같이, DD02001A_trans는 HPK1 키나아제 활성에 대해 매우 효과적인 억제 작용이 있다.

[0415] 2.2.3 화합물에 의한 다른 단백질 키나아제 활성 체외 억제 테스트

표 5

[0416] 실험에 필요한 시약 및 그 출처

재료 및 시약	공급 업체	Cat#	재료 및 시약	공급 업체	Cat#
HTRF KinEASE-TK kit	Cisbio	62TKOPEC	AXL	Signalchem	A34-11H-10
ADP-Glo Kinase Assay	Promega	V9102	c-Kit	Carna	08-156
MAP4K1 (HPK1)	Signalchem	M23-10G-05	c-Met	Carna	08-151
GLK/MAP4K3	Invitrogen	PV6351	CSF1R	Invitrogen	4448892
MAP4K4 (HGK)	Carna	07-137	EGFR	Signalchem	E10-112G-10
MAP4K5 (KHS)	Signalchem	M27-10G-05	FGFR1	Invitrogen	PV3146
MAP4K6 (MINK1)	Signalchem	M53-11G-10	FGFR2	Invitrogen	PV3368
ZAP70	Carna	08-177	Her2	Invitrogen	PV3366
LCK	Signalchem	L03-10G-10	IGF1R	Signalchem	I02-11H-10
JNK1	Carna	04-163	ROS1	Signalchem	R14-11G-10
CK1 gamma 1, Active	Signalchem	C64-10G-10	VEGFR1 (FLT1)	Invitrogen	PV3666
Aurora B	Carna	05-102	VEGFR2	Signalchem	K01-11G-10
AKT1	Signalchem	A16-10G-10	JAK1	Invitrogen	PV4774
MNK1	Carna	02-145	Ret WT	Carna	08-159
MNK2	Carna	02-146	CDK2/Cyclin E1	Carna	04-165
TAK1-TAB1	Signalchem	M15-13G	CDK9/CycT1	Carna	04-110
MAPK14 (p38 α)	Signalchem	M39-10BG	CDK4/CyclinD3	Carna	04-105
SYK	Signalchem	S52-10G-10	ERK2	Signalchem	M28-10G-10
LYN (LYN B)	Signalchem	L13-10G-10	LRRK2	Invitrogen	PR8604B
ATR	Eurofins	14-953	CDK7	Invitrogen	PV3868
PAK4	Carna	07-126	CDK12	Biotrus	BP1642/1648/691
TBK1	Signalchem	T02-10G-10	BRAF	Invitrogen	PV3848
IKK-BETA	Signalchem	I03-18G-10	PI3K-α	Invitrogen	PV4788
ERK1	Signalchem	M29-10G-10	PKC-α	Signalchem	P61-18G

[0417] 상기 HPK1 키나아제 활성 억제 테스트 실험과 유사한 실험 과정을 사용하여 10 μM의 농도에서(중복 웰) HPK1을 포함한 48개의 키나아제에 대한 화합물 DD02001A_trans의 억제율을 테스트하였다.

표 6

[0418] 10 μM에서 면역 관련 단백질 키나아제에 대한 DD02001A_trans의 억제율

번호	단백질 키나아제 명칭	억제율(%)
1	JAK1	97.278
2	CSF1R	101.965

3	SYK	85.074
4	LCK	87.600
5	LYNB	82.948
6	PI3K α	79.095

[0419] 10 μ M의 농도에서 DD02001A_trans은 AKT1, HER2, EGFR, ERK1/2, ZAP70, IGF1R, ATR, MNK1/2, ROS1, CDK4, CDK7, CDK12, p38-alpha, IKK-beta, CK1gamma1 등과 같은 대부분의 키나아제에 대해 현저한 억제 효과(억제율 <40%)를 나타내지 않았지만 표 6에 나타난 바와 같은 면역 관련 단백질 키나아제에 대해 고도로 선택적으로 억제하고, 이는 화합물 DD02001A_trans는 우수한 키나아제 억제 선택성을 가짐을 나타낸다.

[0420] 2.2.4 화합물의 약동학적 매개변수의 측정

[0421] 수컷 SD 래트 3마리를 선택하여 정맥주사(2 mg/kg) 및 위관 투여(10 mg/kg)로 테스트할 화합물을 각각 투여하고, 액체 크로마토그래피-탠덤 질량 분석법으로 혈장 중 테스트할 화합물의 혈액 약물 농도를 정량적으로 측정하며, 약동학적 매개변수를 계산하고, SD 수컷 래트에서 테스트할 화합물의 약동학적 특징을 고찰하였다. 테스트할 화합물을 경구 투여한 후 0.25시간, 0.5시간, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 8시간 및 24시간 시점에 각각 혈액을 채취하고, 정맥 투여한 후, 0.083시간, 0.25시간, 0.5시간, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 8시간 및 24시간 시점에 각각 혈액을 채취한 직후 50 μ L의 혈장 샘플을 96웰 플레이트에 옮기며, 250 μ L의 ACN(내부 표준물질은 260ng/ml의 톨부타미드를 함유함)을 첨가하여 단백질을 침전시키고, 4°C, 4000 rpm에서 20분 동안 원심분리한 후 150 μ L의 상층액을 새로운 96웰 플레이트에 옮기며, 150 μ L의 0.1%의 FA/물과 혼합한 직후 5 μ L의 얻은 용액을 취하여 LC-MS/MS에 넣어 분석하였다.

표 7

[0422] DD02001A_trans의 경구 절대 생체 이용율

화합물	경구 절대 생체 이용율%
DD02001A_trans	61.3

[0423] 2.2.5 DD02001A_trans 급성 독성 실험

[0424] 마우스에 DD02001A_trans(2000, 1500, 1000, 500 mg/kg)을 각각 한번에 위관 투여하고, 투여 후 마우스의 반응 및 2주 내의 사망 상황을 기록하였다.

[0425] 2.2.5.1 동물: 콘밍 마우스(광동성 실험 동물 센터에서 구입, 허가번호: SCXK(광동)2018-0002), 10마리, 절반은 수컷, 절반은 암컷. 체중 18~22 g. 마우스를 구입한 후 환경에 적응시키기 위해 마우스를 3일 동안 사육하였다. 마우스를 실내 온도 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 상대 습도 40%~60%의 실내 우리에 가두었고, 자유롭게 먹고 마시도록 하였다.

[0426] 2.5.1.2 방법: 실험 전 마우스를 10시간 동안 금식시키되 금수시키지 않았다. 마우스에 각 농도의 테스트할 약물(0.1ml/10g)을 각각 한번에 위관 투여하고, 14일 동안 지속적으로 관찰하며, 투여 후 동물의 중독 증상, 중독 시간 및 지속 시간 및 동물사망 상황을 상세히 기록하고; 사망 동물에 대해서는 제때에 부검을 수행하며, 병변 상황을 기록하고, 육안으로 현저한 변화가 관찰되면 병리학적 생검을 수행하여야 한다.

[0427] 급성 독성 실험 결과에 따르면, 위관 투여된 DD02001A_trans에 대한 마우스의 최대 허용 용량은 1000~1500 mg/kg 범위 내에 있다.

[0428] 실시예 2. HPK1에 의한 IFN- β 신호 전달 경로 억제의 검출

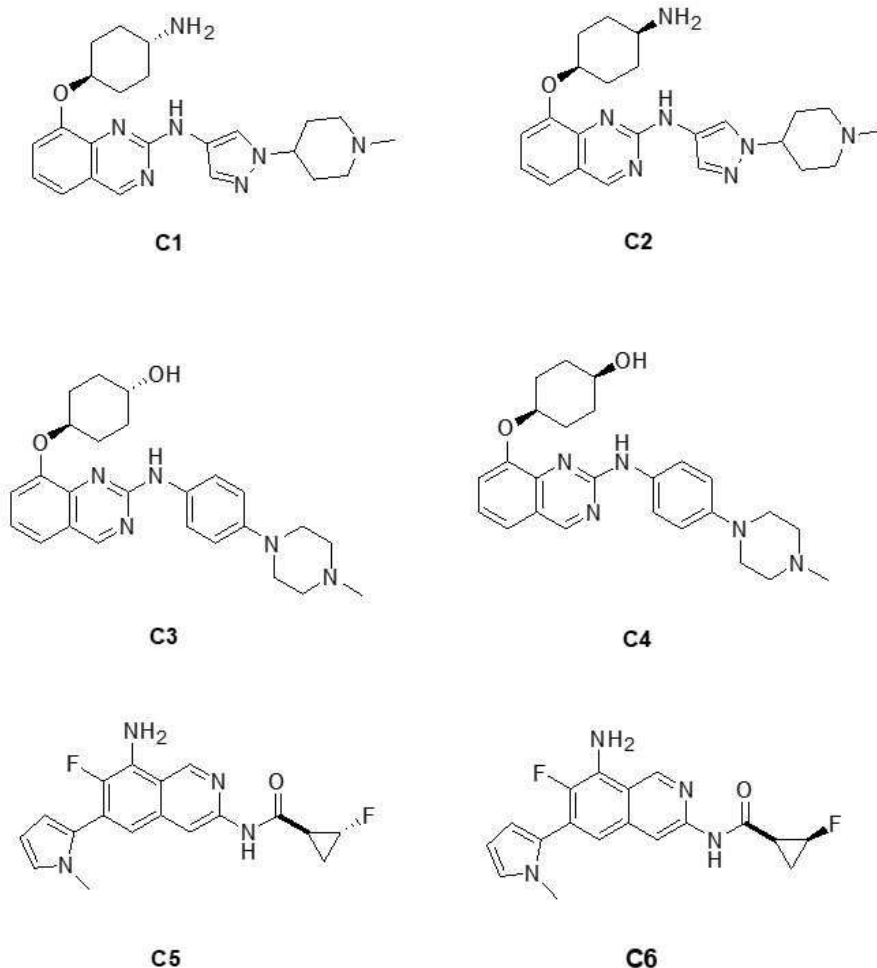
[0429] 인터페론 β (IFN- β)는 IFNB1 유전자에 의해 코딩되는 단백질이다. 천연 또는 제조함 IFN- β 단백질은 항바이러스, 항균, 항암 활성을 갖는다. HPK1과 IFN- β 신호 전달 경로 사이의 내재적 관계를 탐구하기 위해, HEK293 세포에서 HPK1 및 IFN- β Luciferase Reporter 플라스미드를 과발현시키고, 형질 감염 24시간 후 센다이 바이러스 (SeV)로 세포를 자극하며, 12시간 후 세포를 수집하여 IFN- β Luciferase 활성 검출을 수행하였다. 그 결과, HPK1(1-274) 키나아제 도메인의 과발현이 SeV에 의해 유도되는 IFN- β 전사(도 1)를 현저히 억제할 수 있는 것으로 나타났다. 나아가, 상이한 양의 HPK1 플라스미드를 발현하면 SeV에 의해 유도되는 IFN- β 전사(도 2)를 용량 의존적으로 억제할 수 있다.

[0430] ISRE(IFN-stimulated response elements)는 인산화된 IRF3에 결합하여 IFN- β 전사를 매개할 수 있으며, 이는

항바이러스 경로의 또 다른 중요한 지표이다. HEK293 세포에서 상이한 용량의 HPK1 및 ISRE Luciferase Reporter 플라스미드를 과발현하고, 형질 감염 24시간 후 센다이 바이러스(SeV)로 세포를 자극하며, 12시간 후 세포를 수집하여 ISRE Luciferase 활성 검출을 수행하였다. 그 결과, HPK1은 SeV에 의해 유도되는 ISRE 전사(도 3)를 용량 의존적으로 억제할 수 있는 것으로 나타났다.

[0431] 실시예 3. 본 발명의 화합물의 체외 효소 활성의 검출

[0432] 본 발명자들은 ADP-Glo™ 방법을 사용하여 HPK1 키나아제에 대한 본 발명의 화합물(C1-C6)의 억제 활성을 검출하였다.



[0433]

[0434] ADP-Glo™ 키나아제 검출은, 키나아제 반응 과정에서 생성된 ADP의 양을 정량화하여 키나아제 활성을 측정하는 다목적, 균질, 고처리량 스크리닝 방법을 제공하는 발광 ADP 검출 방법이다. 검출은 두 단계로 나누어 수행되며, 먼저, 키나아제 반응 후 동량의 ADP-Glo™ 시약을 첨가하여 키나아제 반응을 중단하고 나머지 ATP를 소모하였다. 다음으로, 키나아제 검출 시약을 첨가하여 ADP를 ATP로 동시에 전환하고, 루시페라제/루시페린 반응을 사용하여 허용하여 새로 합성된 ATP를 측정하였다. 광도계를 사용하여 생성된 빛을 측정하였다. ATP에서 ADP로의 전환 곡선을 사용하여 발광성을 ADP 농도와 연관시킬 수 있다. 본 연구에서 평가된 6개의 소분자 억제제는 모두 체외 재조합 HPK1 키나아제에 대해 우수한 억제 활성을 나타내고, IC₅₀은 모두 0.1 μM 미만(표 8)이었다. 이와 동시에, GCK/TNIK/PDK1와 같이 상동성 관계가 더 가까운 키나아제에서 우수한 선택성을 나타냈다. 이러한 특성은 화합물이 세포 또는 동물 실험에서 HPK1 효소 활성을 특이적으로 억제할 수 있도록 보장하였다.

표 8

[0435]

체의 제조합 단백질에 대한 소분자 억제제의 억제 활성^a.

화합물	HPK1	GCK	TNIK	PDK1
C1	A	B	C	C
C2	A	B	C	C
C3	B	B	B	D
C4	B	B	B	D
C5	A	A	B	D
C6	A	B	B	D

^a활성 등급: A, $IC_{50} \leq 0.01 \mu M$; B, $0.01 \mu M < IC_{50} \leq 0.1 \mu M$; C, $0.1 \mu M < IC_{50} \leq 1 \mu M$; D, $IC_{50} > 1 \mu M$

[0436]

실시예 4. 본 발명의 화합물에 의한 HPK1에 의해 억제된 IFN- β 발현의 회복

[0437]

연구에 비추어 보아 HPK1은 항바이러스 IFN- β 신호 전달 경로를 억제함을 발견하였으므로 본 발명자들은 HPK1 소분자 억제제가 HPK1에 의해 억제된 IFN- β 발현을 회복할 수 있는지 여부를 탐구하였다. 상기 실험 과정과 마찬가지로, HEK293 세포에서 HPK1 및 IFN- β Luciferase Reporter 플라스미드를 과발현시키고, 형질 감염 18시간 후 $0.5 \mu M$ 의 화합물을 첨가하며, 24시간 후 SeV로 세포를 자극하고, 12시간 후 세포를 수집하여 IFN- β Luciferase 활성 검출을 수행하였다. 그 결과, 화합물 C2}C3}C4은 비교적 우수한 활성을 갖고, 그 다음으로 화합물 C1 및 C6인(도 4) 것으로 나타났다. 나아가, 화합물 C2는 HPK1에 의해 억제된 IFN- β 발현을 용량 의존적으로 회복함을 나타낸다(도 5).

[0438]

실시예 5. 본 발명의 화합물의 경구 최대 허용 용량

[0439]

본 발명자들은 마우스에서 대표적인 화합물의 경구 최대 허용 용량을 테스트하였다. 테스트 결과, 단일 투여 화합물 C1의 경구 최대 허용 용량은 337.5 mg/kg (표 9)이고, 화합물 C3의 경구 최대 허용 용량은 225 mg/kg (표 10)인 것으로 나타났다.

표 9

[0440]

마우스에서 소분자 화합물 C1 경구 급성 독성 테스트 결과.

용량(mg/kg, P.O.)	사망 상황	
	수컷 마우스	암컷 마우스
225	0/5	0/5
337.5	0/5	0/5
506.3	2/5	1/5
759.4	4/5	4/5
1139.1	5/5	5/5

표 10

[0441]

마우스에서 소분자 화합물 C3 경구 급성 독성 테스트 결과.

용량(mg/kg, P.O.)	사망 상황	
	수컷 마우스	암컷 마우스
225	0/5	0/5
337.5	1/5	2/5
506.3	3/5	2/5
759.4	3/5	5/5
1139.1	5/5	5/5

[0442]

실시예 6. 본 발명의 화합물에 의한 마우스 MHV 모델의 효과적인 치료

[0443]

동물 모델에서 HPK1 소분자 억제제의 항바이러스 효능을 평가하기 위해, 본 발명자들은 마우스 간염 바이러스(Mouse Hepatitis Virus, MHV)에 감염된 C57 마우스 모델을 사용하였다. MHV는 간과 신경계를 쉽게 감염시키는

마우스 코로나바이러스이다. 그룹당 3마리의 8주령 암컷 C57 마우스에게 4×10^4 pfu 바이러스를 간에 동소적으로 주사하였다. 바이러스를 접종한 후, 마우스에 경구 투여 치료(10 mg/kg, BID)를 수행하였다. 바이러스 감염 3일 후, qPCR을 사용하여 간 조직의 바이러스 함량을 검출하였다. 여기서 화합물 C1은 비교적 현저한 항바이러스 효능을 나타내고, 마우스의 간 중의 바이러스 역가(도 6)를 효과적으로 감소시킬 수 있다. 동일한 바이러스에 감염된 C57 마우스 모델에서, 상이한 용량의 C1(5 mg/kg, 20 mg/kg)을 1일 2회 경구 투여하며, 마우스의 간 중의 바이러스 역가(도 7) 및 형질 중의 알라닌 아미노트랜스퍼라제(도 8)에 대해 용량 의존적인 억제 효과를 가졌다.

[0444] 실시예 7. 본 발명의 화합물에 의한 고양이 복막염의 효과적인 치료

[0445] 양이 복막염으로 약칭되는 고양이 전염성 복막염(Feline Infectious Peritonitis, FIP)은 고양이의 치명적인 비정상적인 면역 반응으로서, 고양이가 가지고 다니는 고양이 코로나바이러스의 돌연변이로 인해 발생한다. 현재 FIP는 여전히 불치병이고, 발병 후 사망 시간은 불확실하지만 1년 이상 생존하는 경우가 드물다. 상기 질환의 명칭이 비록 “복막염”이지만 FIP는 실질적으로 다중 시스템 염증성 질환이며, 감염된 고양이가 모두 복막염 증상을 나타내는 것은 아니다. 감염된 고양이의 증상발현은 일반적으로 두 유형으로 나뉘는데, 각각 습성(wet) FIP와 건성(dry) FIP이되, 습성 FIP는 전체 병례의 약 70%를 차지하고, 복강 및 흉강에 삼출물이 나타나고, 비정상적으로 튀어나오는 것으로 나타나며; 건성 FIP 감염된 고양이의 증상은 다양하며, 바이러스가 침범한 장기의 유형에 의해 결정된다. 2011년 기준으로 FIP는 선진국 애완고양이 치명적인 전염병 중 1위를 차지하고 있다.

[0446] 이전 연구(Ishida et al., Journal of Feline Medicine and Surgery, 2004)에 따르면 재조합 고양이 인터페론(recombinant feline interferon, rFeIFN)은 고양이 복막염에 치료 효과가 있음을 발견하였다. 우리의 연구 결과와 결합하여, HPK1 억제제는 IFN- β 신호 전달 경로를 활성화할 수 있음을 발견하였다. 따라서 우리는 HPK1 억제제는 고양이 복막염에 치료 효과가 있을 수 있다는 가설을 세웠다. 상기 가설을 검증하기 위해, 우리는 동물 임상 시험을 수행하였다. 실험에 참여한 3마리의 동물은 모두 고양이 복막염을 앓고 있고, 연령은 5~12개월 사이이며, 그 중 1마리는 암컷이고, 2마리는 수컷(표 11)이었다.

표 11

[0447] HPK1 억제제에 의한 고양이 복막염의 항바이러스 치료 실험에 참여한 동물.

실험 동물 번호	성별	연령	고양이 복막염의 유형(건성 또는 습성)
1	암컷	6개월	습성
2	수컷	5개월	습성
3	수컷	12개월	습성

[0448] 화합물 C1 용액 주사 투여(1일 2회, 용량 1.5 mg/kg)를 통해 20일 동안 치료한 후, 실험 동물의 생리학적 지표는 전반적으로 호전되었으며(표 12): (1) 식욕이 증가하여 체중이 증가가 발생하고; (2) 정신 상태가 나른함에서 활발하고 활동적으로 호전되며; (3) 복수가 사라지고; (4) 백혈구 비율이 증가하며; (5) 고양이 혈청 아밀로이드 A가 현저히 감소하였다.

표 12

[0449] 소분자 화합물 C1에 의한 고양이 복막염 동물 치료 전후 생리학적 지표 변화.

생리학적 지표	동물번호	치료 전	치료 후
체중(kg)	1	1.5	2.15
	2	2.31	2.81
	3	2.9	3.2
백혈구 비율	1	0.5	0.7
	2	0.35	0.47
	3	0.4	0.5

고양이 혈청 아밀로이드 A(fSAA,mg/L)	1	NA*	NA
	2	70.47	15.14
	3	104.88	17.97
홍복수 상황	1	현저한 복수	복수가 사라짐
	2	현저한 홍수, 소량의 복수	복수가 사라짐
	3	현저한 홍수, 호흡 곤란	홍수가 줄어들고, 호흡 개선
*NA, not available			

[0450] 이로써 우리는 HPK1 소분자 억제제는 코로나바이러스로 인한 고양이 복막염을 효과적으로 치료할 수 있다는 결론을 내렸다.

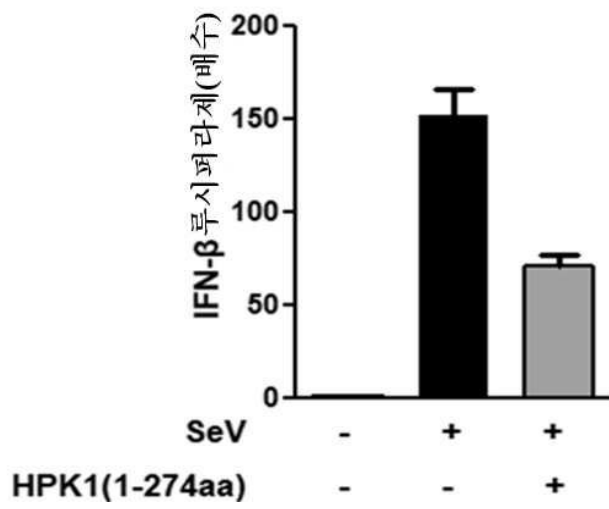
[0451] 결론

[0452] 본 발명자들은 HPK1은 IFN- β 신호 전달 경로를 현저히 억제할 수 있음을 발견하였다. 그러나 이전 연구에 따르면, HPK1은 또한 IFN- γ 신호 전달 경로를 현저히 억제할 수 있음을 발견하였다. HPK1 억제제를 사용하여 IFN- β 에 의해 매개되는 항바이러스 작용 및 IFN- γ 에 의해 매개되는 T 세포 활성화 2개의 차원에서 항감염 치료를 수행할 수 있다. 따라서, HPK1 억제제는 모든 IFN- β /IFN- γ 에 작용 효과가 있는 바이러스로 인한 인간 또는 동물의 질환에 치료 효과를 갖고, B형 간염 바이러스(Hepatitis B virus), 홍역 바이러스(Measles Virus), 신드비스 바이러스(Sindbis Virus), 웨스트 나일 바이러스(West Nile Virus), 뎅기 바이러스(Dengue Virus), 포진 바이러스(Herpes Simplex Virus), 인간 거대세포 바이러스(Human Cytomegalovirus HCMV), 에볼라 바이러스(Ebola Virus), C형 간염 바이러스(HCV), 인플루엔자 바이러스(Influenza A Virus), 중증급성호흡기증후군 바이러스(SARS-CoV), 지카 바이러스(Zika Virus), 에이즈 바이러스(HIV), 고양이 전염성 복막염 바이러스(Feline Infectious Peritonitis Virus), 마우스 간염 바이러스(Mouse Hepatitis Virus), 개 코로나바이러스(Canine Coronavirus), 고양이 칼리시바이러스(Feline Calicivirus), 고양이 백혈병 바이러스(Feline Leukemia Virus), 고양이 에이즈 바이러스(Feline Immunodeficiency Virus), 고양이 범백혈구감소증 바이러스(Feline Panleukopenia Virus), 닭 전염성 기관지염 바이러스(Avian Infectious Bronchitis Virus), 돼지 전염성 위장염 바이러스(Transmissible Gastroenteritis Virus), 돼지 유행성 설사 바이러스(Porcine Epidemic Diarrhea Virus), 돼지 혈구응집성 뇌척수염 바이러스(Porcine Hemagglutinating Encephalomyelitis Virus), 소 코로나바이러스(Bovine Coronavirus) 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. HPK1 억제제는 상기 바이러스로 인한 질환 치료용 신규 광범위한 항바이러스 요법으로 사용될 것으로 기대된다.

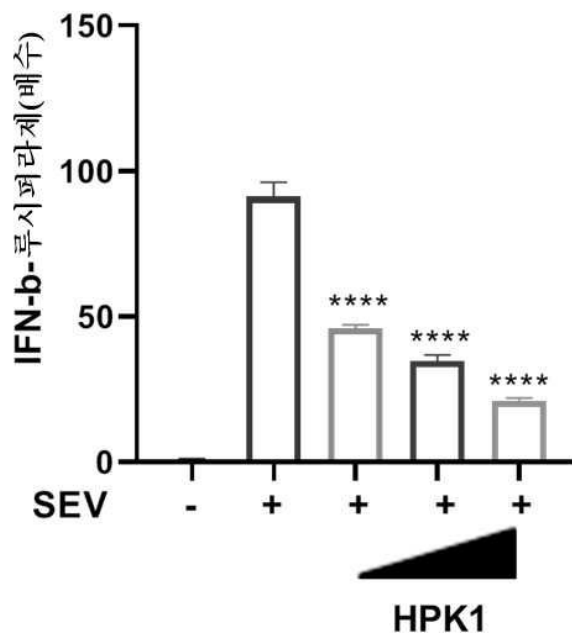
[0453] 본 발명에서 언급된 모든 문헌은 각 문헌이 단독으로 참조로서 인용된 것처럼 본 발명에 참조로서 인용된다. 이 밖에, 본 발명의 상기 교시 내용을 열독한 후, 당업자는 본 발명에 대해 다양한 변경 또는 수정을 가할 수 있으며, 이러한 등가 형태도 본 발명의 첨부된 특허청구범위에 의해 한정된 범위 내에 속함을 이해해야 한다.

도면

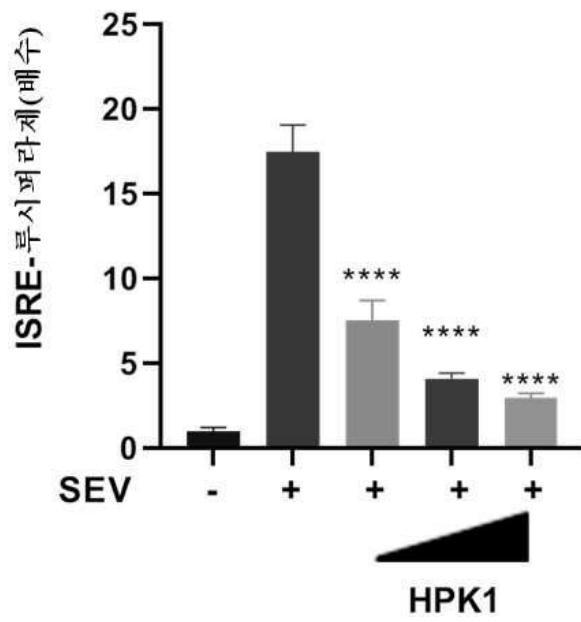
도면1



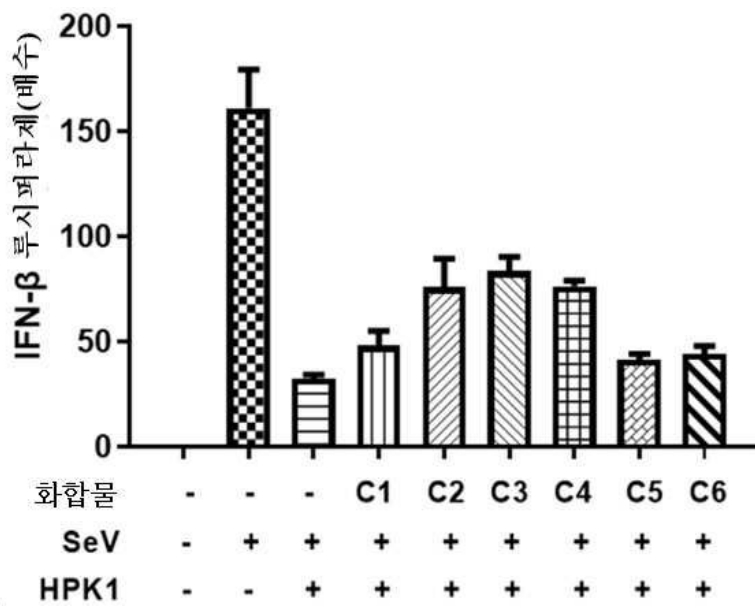
도면2



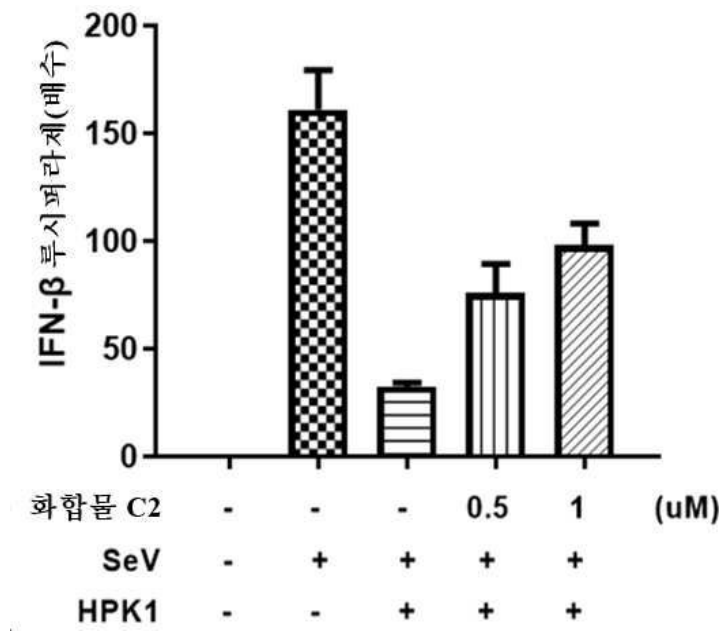
도면3



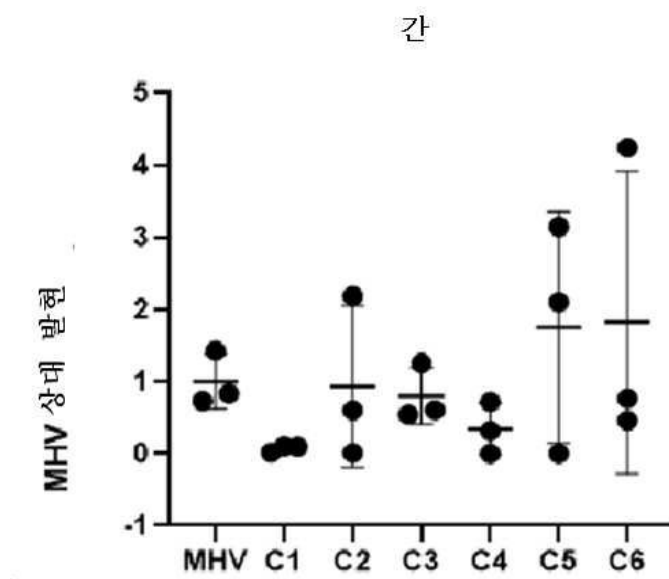
도면4



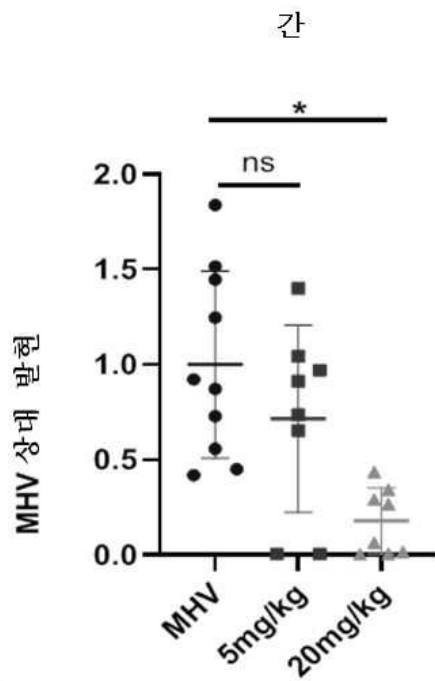
도면5



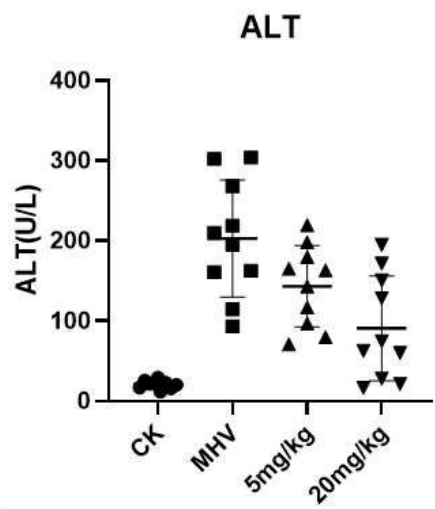
도면6



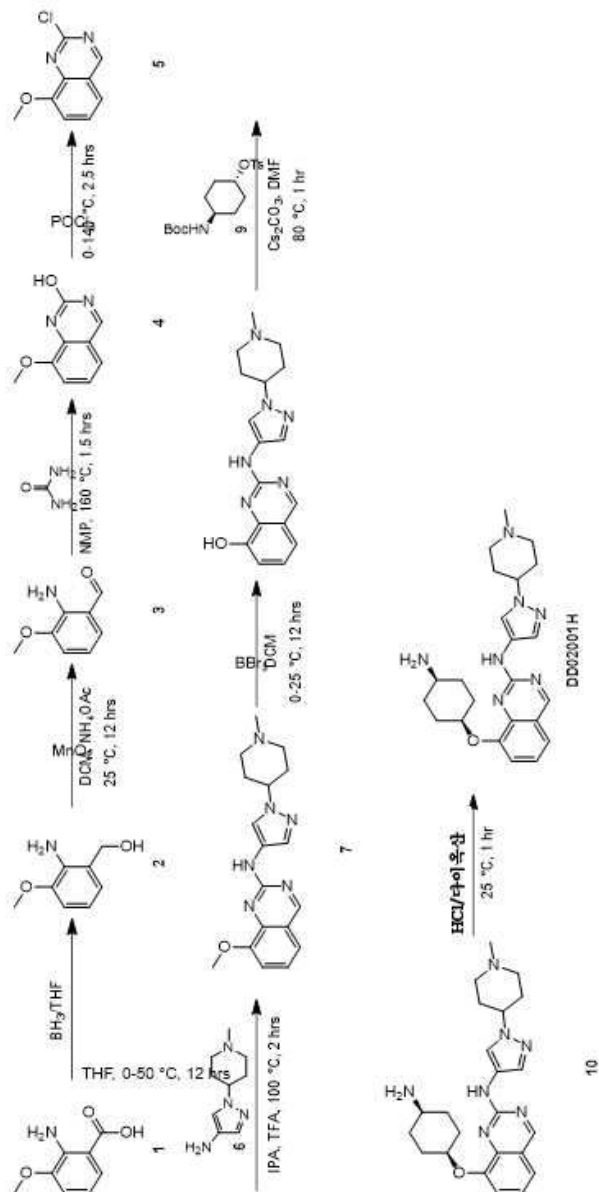
도면7



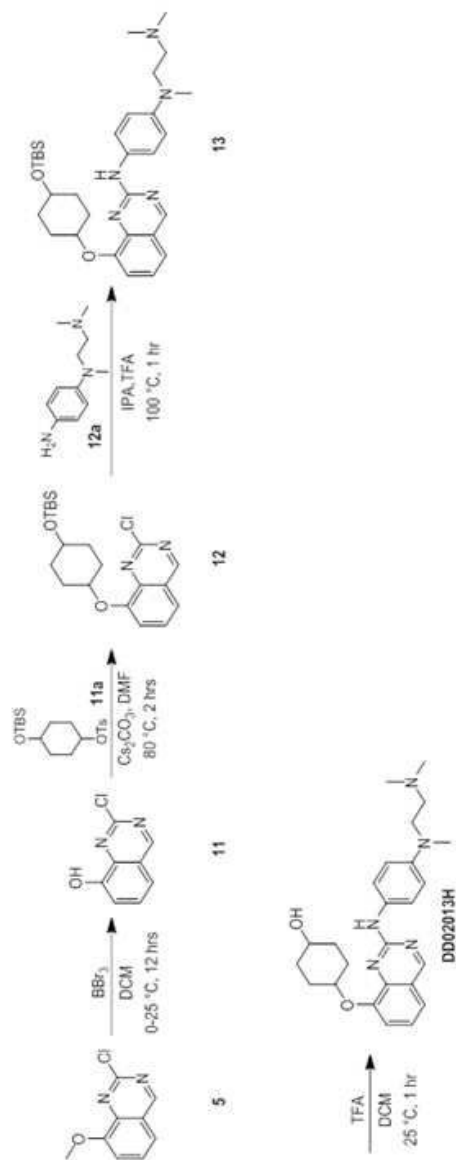
도면8



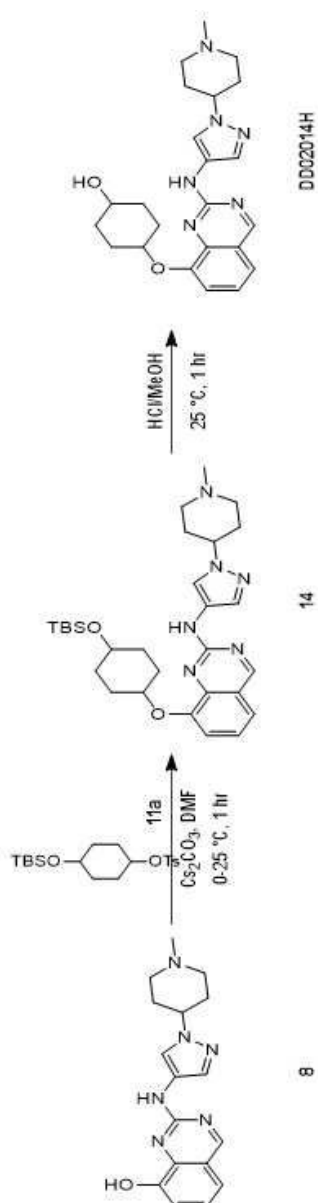
도면9



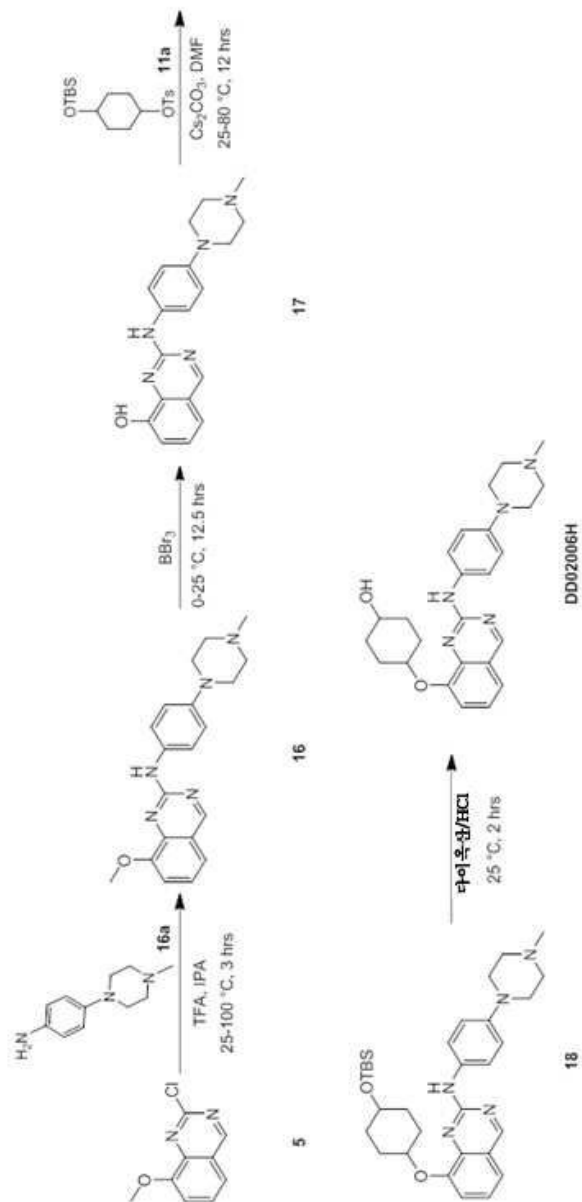
도면10



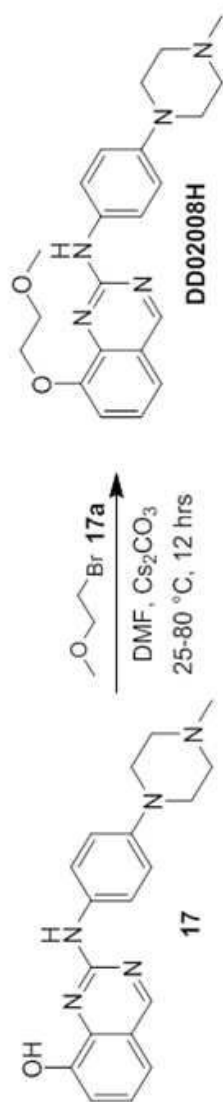
도면11



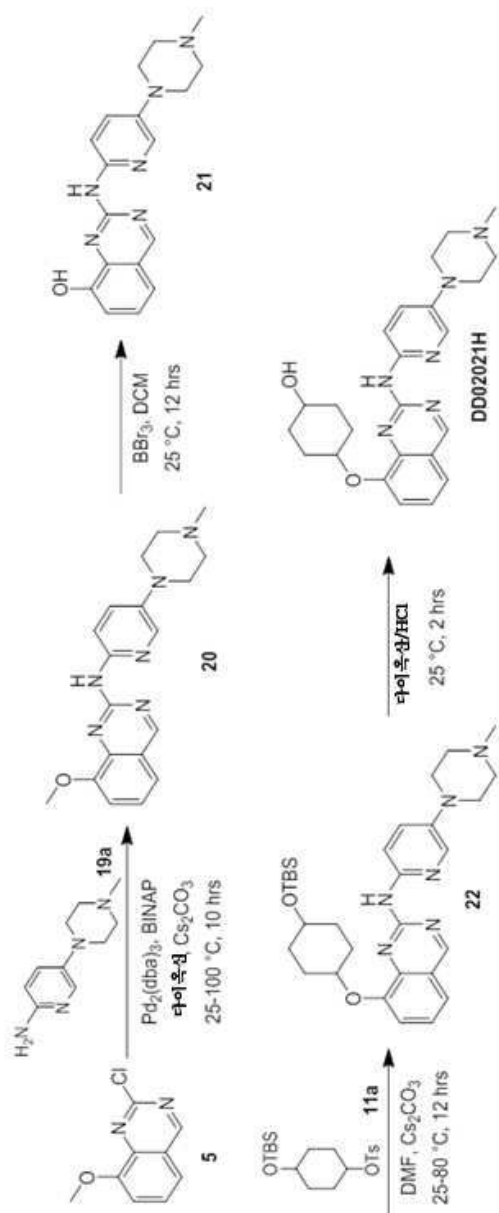
도면12



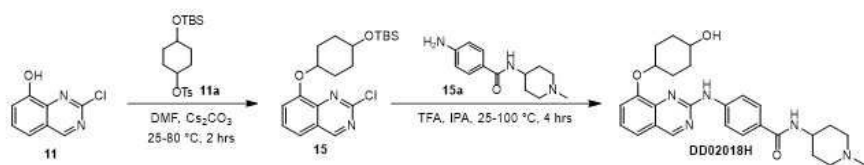
도면13



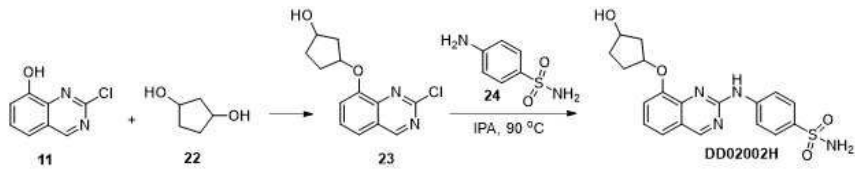
도면 15



도면 16



도면17



도면18

